

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

CAMILA MARTINS DE MELO

**EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DA COLINA
PROTEGIDA RUMINALMENTE EM VACAS LEITEIRAS NO
PERÍODO DE TRANSIÇÃO**

CURITIBA

2016

CAMILA MARTINS DE MELO

**EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DA COLINA
PROTEGIDA RUMINALMENTE EM VACAS LEITEIRAS NO
PERÍODO DE TRANSIÇÃO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Zootecnia, Área de Concentração em Nutrição e Produção Animal, linha de pesquisa Nutrição e Produção de Herbívoros e Forragicultura, Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre em Zootecnia.

Orientador: Prof. Dr. Rodrigo de Almeida

CURITIBA

2016

M528 Melo, Camila Martins de

Efeitos da suplementação da colina protegida ruminalmente em vacas leiteiras no período de transição. Camila Martins de Melo. Curitiba: 2016.
89 f. il.

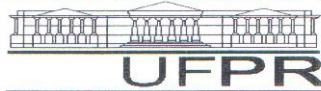
Orientador: Rodrigo de Almeida

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Paraná. Setor de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Zootecnia.

1. Bovino de leite – Metabolismo. 2. Vaca - Reprodução. 3. Nutrição animal. I. Almeida, Rodrigo de. II. Universidade Federal do Paraná. Setor de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Zootecnia. III. Título.

CDU 636.2.034.084

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA



PARECER

A Comissão Examinadora da Defesa da Dissertação intitulada “EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DA COLINA PROTEGIDA RUMINALMENTE EM VACAS LEITEIRAS NO PERÍODO DE TRANSIÇÃO” apresentada pela Mestranda **CAMILA MARTINS DE MELO** declara ante os méritos demonstrados pela Candidata, e de acordo com o Art. 79 da Resolução nº 65/09–CEPE/UFPR, que considerou a candidata APTA para receber o Título de Mestre em Zootecnia, na Área de Concentração em Nutrição e Produção Animal.

Curitiba, 25 de fevereiro de 2016.

Professor Dr. Rodrigo Almeida
Presidente/Orientador

Professor Dr. Félix H. Díaz González
Membro

Professora Dra. Simone Gisele de Oliveira
Membro

A minha família e esposo, que são o alicerce do meu crescimento
pessoal e profissional.

Ao meu avô, Rodolfo Stoianov (in memorian), que sempre me instigou a ir além dos
meus
limites.

Dedico.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por me manter forte e determinada a concluir meus objetivos.

Agradeço em especial aos meus pais Márcia e Fernando, minha avó Nilza e meu avô Rodolfo (in memoriam) pelo amor, carinho e apoio incondicional.

Agradeço ao meu esposo André, por todo amor, companheirismo, compreensão, paciência e por sempre me encorajar a buscar meus sonhos.

Ao meu orientador Prof. Dr. Rodrigo de Almeida pela pessoa, pelo profissional e exemplo de ética e compromisso. Obrigada pela confiança, pelos ensinamentos, conselhos, inúmeras reuniões e e-mails ao longo desses dois anos de trabalho.

Ao Prof. André Ostrensky que me acompanha desde a graduação, obrigada pela amizade, pelas palavras de encorajamento, pelos conselhos, ensinamentos e por despertar em mim a paixão pela pesquisa.

As Prof. Dra. Simone G. Oliveira e Prof. Dra. Maity Zopollatto, referências como pessoas e profissionais. Obrigada por todo o carinho, conselhos e ensinamentos.

Ao Henderson Ayres da MSD Saúde Animal, pelo auxílio com as análises estatísticas referente aos dados reprodutivos.

Ao Lorenzo, “meu estagiário”, sem palavras para agradecer por todo o seu esforço, dedicação e parceria a campo.

Ao Grupo do Leite pela amizade, ensinamentos, conselhos e boas risadas.

À equipe do Laboratório de Patologia Clínica Veterinária, Prof. Rosangela L. Dittrich, coordenadora do laboratório que gentilmente cedeu o uso do equipamento para as análises.

Agradeço em especial ao Olair pelas intermináveis tardes de análises, pelas conversas, ensinamentos e conselhos, o meu muito obrigado.

A todos do Laboratório de Nutrição Animal pelo auxílio nas análises bromatológicas.

A Associação Paranaense de Criadores de Bovinos da Raça Holandesa – APCBRH, pela cessão dos dados dos animais para a confecção dos resultados. Obrigada José Augusto Horst pelo empenho e a Dayane por sempre atender as minhas solicitações tão prontamente.

Meus sinceros agradecimentos a Fazenda São Cristóvão e a todos os funcionários que participaram de forma direta e indiretamente deste projeto.

A Safeeds e Jefe, meu muito obrigado pelo apoio financeiro nesse projeto. Sem a ajuda de vocês, o caminho para a concretização desse trabalho seria muito mais difícil. Espero sinceramente que os resultados desse estudo ajudem vocês.

Não posso deixar de sempre agradecer aos animais, nesse caso as vacas leiteiras, que de alguma forma contribuíram para a realização desse projeto pessoal.

E por fim, agradeço a Universidade Federal do Paraná, que se tornou minha segunda casa ao longo desses dois anos, e que me proporcionou toda a estrutura necessária para a concretização desse sonho, espero um dia poder voltar e compartilhar todo o meu conhecimento.

MUITO OBRIGADA!

RESUMO

O período de transição comumente definido como as três semanas que antecedem o parto até três semanas após o parto, é o momento mais crítico do ciclo produtivo da vaca leiteira. Nesse período ocorre intensa mobilização de tecido adiposo devido ao menor consumo de matéria seca e consequentemente, vacas recém paridas entram em algum grau de balanço energético negativo (BEN). Vários métodos têm sido empregados com o objetivo de avaliar o manejo destes animais durante este período. Avaliar a ocorrência de doenças e distúrbios metabólicos pode ser uma boa alternativa. Contudo, a falta de padronização no diagnóstico das doenças e a ocorrência de quadros subclínicos comprometem a eficácia desta ferramenta. Assim, conhecer o comportamento de metabólitos sanguíneos que refletem o status nutricional dos animais é um recurso importante para adequar o manejo e evitar as perdas causadas pelas enfermidades. No primeiro capítulo realizou-se a revisão bibliográfica sobre o período de transição. Esta revisão discorreu sobre as típicas desordens metabólicas que acometem o período periparturiente e os metabólitos sanguíneos indicadores do status energético e sua influência sobre a produção leiteira e reprodução. O segundo capítulo teve como objetivo avaliar o efeito da suplementação de colina protegida ruminalmente (CPR) em vacas leiteiras no período de transição sobre as concentrações séricas de beta-hidroxibutirato (BHBA), ácidos graxos não esterificados (AGNE), colesterol total, triglicerídeos, lipoproteínas de alta densidade (HDL), lipoproteínas de baixa densidade (LDL), lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL) e cálcio total, produção e composição do leite (gordura, proteína, lactose, sólidos totais, nitrogênio uréico no leite - NUL e contagem de células somáticas - CCS), peso corporal e escore de condição corporal em vacas leiteiras no período de transição, entre -21 dias antes do parto e +21 dias após o parto. Nas condições experimentais propostas, a suplementação de 100g/vaca/dia do produto comercial com garantia de aporte de 20,9 g diárias de CPR, não alterou as concentrações séricas dos parâmetros metabólicos, produção e composição do leite e retorno reprodutivo dos animais tratados. Desta forma, é importante explorar as informações existentes sobre o período de transição de vacas leiteiras, enfatizando práticas de manejo nutricional no periparto, bem como ferramentas de monitoramento clínico na prevenção de desordens metabólicas típicas deste período.

Palavras-chave: ácidos graxos não esterificados, beta-hidroxibutirato, colina protegida ruminalmente.

ABSTRACT

The transition period commonly defined as the three weeks before calving up to three weeks after birth, is the most critical time in the production of dairy cow cycle. In this period is intense mobilization of adipose tissue due to lower dry matter intake and consequently newly calved cows come into some degree of negative energy balance (BEN) . Several methods have been employed in order to evaluate the management of these animals during this period. To evaluate the occurrence of diseases and metabolic disorders can be a good alternative. However, the lack of standardization in the diagnosis of disease and the occurrence of subclinical frames undermine the effectiveness of this tool. Thus, knowing the behavior of blood metabolites that reflect the nutritional status of animals is an important feature to adjust the management and prevent the losses caused by the disease. In the first chapter held a literature review of the transition period. This review talked about the typical metabolic disorders that affect the periparturiente period and blood metabolites indicators of energy status and its influence on milk production and reproduction. The second chapter aimed to assess choline supplementation effect protected ruminamente (CPR) in dairy cows during the transition period on serum concentrations of beta-hydroxybutyrate (BHBA), non-esterified fatty acids (NEFA), total cholesterol, triglycerides, high density lipoproteins (HDL), low density lipoproteins (LDL), very low density lipoproteins (VLDL), total calcium, milk yield and composition (fat, protein, lactose, total solids, milk urea nitrogen - NUL and somatic cell count - SCC), body weight and body condition score in dairy cows during the transition period between -21 days before delivery and +21 days after delivery. In the experimental conditions, supplementation of 100 g / cow / day commercial product with daily 20.9 g guarantee to contribute CPR, do not affect the serum concentrations of the metabolic parameters, milk yield and composition and reproductive return of treated animals. Thus, it is important to explore the existing information about the period of transition dairy cows, emphasizing nutritional management practices in the peripartum and clinical monitoring tools in the prevention of metabolic disorders typical of this period.

Keywords: nonesterified fatty acids, beta-hydroxybutyrate, rumen-protected choline.

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I – COLINA E PERÍODO DE TRANSIÇÃO DE VACAS LEITEIRAS

Figura 1 – Perfil metabólico na cetose em bovinos.....26

Figura 2 – Perfil metabólico na lipidose hepática em bovinos.....28

CAPÍTULO II – EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DA COLINA PROTEGIDA RUMINALMENTE EM VACAS LEITEIRAS NO PERÍODO DE TRANSIÇÃO

Figura 1 – Efeito da suplementação de colina protegida ruminalmente sobre o ECC ao longo do período periparturiente de animais tratados e não tratados com colina59

Figura 2 – Efeito da suplementação de colina protegida ruminalmente sobre o peso corporal ao longo do período periparturiente de animais tratados e não tratados com colina60

Figura 3 – Concentrações séricas de AGNE mmol/L no periparto de animais tratados e não tratados com colina protegida ruminalmente61

Figura 4 – Concentrações séricas de BHBA soro mmol/L no periparto de animais tratados e não tratados com colina protegida ruminalmente62

Figura 5 – Concentrações séricas de BHBA tiras mmol/L no periparto de animais tratados e não tratados com colina protegida ruminalmente62

Figura 6 – Concentrações séricas de colesterol total mg/dL no periparto de animais tratados e não tratados com colina protegida ruminalmente65

Figura 7 – Concentrações séricas de triglicerídeos mg/dL no periparto de animais tratados e não tratados com colina protegida ruminalmente66

Figura 8 – Concentrações séricas de VLDL mg/dL no periparto de animais tratados e não tratados com colina protegida ruminalmente	67
Figura 9 – Concentrações séricas de HDL mg/dL no periparto de animais tratados e não tratados com colina protegida ruminalmente	68
Figura 10 – Concentrações séricas de LDL mg/dL no periparto de animais tratados e não tratados com colina protegida ruminalmente	69
Figura 11 – Concentrações séricas de cálcio total mg/dL no periparto de animais tratados e não tratados com colina protegida ruminalmente	69
Figura 12 – Produção de leite nos primeiros 100 dias de lactação para animais tratados e não tratados com colina protegida ruminalmente	71
Figura 13 – Teor da % de gordura do leite após o parto para animais tratados e não tratados com colina protegida ruminalmente	73
Figura 14 – Teor da % de proteína do leite após o parto para animais tratados e não tratados com colina protegida ruminalmente	74
Figura 15 – Teor da relação % gordura: %proteína do leite após o parto para animais tratados e não tratados com colina protegida ruminalmente	75

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I – COLINA E PERÍODO DE TRANSIÇÃO DE VACAS LEITEIRAS

TABELA 1 – VALORES DE REFERÊNCIA DE ÁCIDOS GRAXOS NÃO ESTERIFICADOS PARA VACAS LEITEIRAS NO PERÍODO DE TRANSIÇÃO.....22

TABELA 2 – VALORES DE REFERÊNCIA DE BETA-HIDROXIBUTIRATO PARA VACAS LEITEIRAS NO PERÍODO DE TRANSIÇÃO.....22

CAPÍTULO II – EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DA COLINA PROTEGIDA RUMINALMENTE EM VACAS LEITEIRAS NO PERÍODO DE TRANSIÇÃO

TABELA 1 – COMPOSIÇÃO DAS DIETAS EXPERIMENTAIS NO PRÉ- E PÓS-PARTO.....52

TABELA 2 – NÍVEIS NUTRICIONAIS DAS DIETAS EXPERIMENTAIS NO PRÉ- E PÓS-PARTO.....53

TABELA 3 – COMPARAÇÃO ENTRE AS MÉDIAS DAS ANÁLISES BROMATOLÓGICAS QUINZENAS E OS VALORES ESTIMADOS PELO NRC (2001) DAS DIETAS EXPERIMENTAIS NO PRÉ- E PÓS-PARTO.....54

TABELA 4 – ANÁLISE DESCRITIVA DAS VARIÁVEIS ESTUDADAS DO GRUPO PÓS-PARTO REFERENTE AOS ANIMAIS DO GRUPO TRATAMENTO E GRUPO CONTROLE.....72

TABELA 5 – TEORES DE GORDURA, PROTEÍNA E RELAÇÃO %GORDURA: %PROTEÍNA NO PRIMEIRO, SEGUNDO E TERCEIRO CONTROLE LEITEIRO, REALIZADO NO DIAS +7, +14 E +21 APÓS O PARTO PARA ANIMAIS TRATADOS E NÃO TRATADOS COM COLINA PROTEGIDA RUMINALMENTE.....	73
--	----

TABELA 6 – EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO DE COLINA PROTEGIDA RUMINALMENTE SOBRE O STATUS REPRODUTIVO DOS ANIMAIS EXPERIMENTAIS UM ANO APÓS O TÉRMINO DO EXPERIMENTO (DEZEMBRO DE 2015).....	76
--	----

TABELA 7 – ANÁLISE DESCRITIVA DOS GRUPOS EXPERIMENTAIS APÓS RETORNOREPRODUTIVO.....	77
--	----

SUMÁRIO

CAPÍTULO I – COLINA E PERÍODO DE TRANSIÇÃO DE VACAS LEITEIRAS

1. INTRODUÇÃO	16
2. REVISÃO DE LITERATURA	17
2.1 Período de transição em vacas leiteiras	17
2.2 Balanço energético negativo (BEN) e Escore de condição corporal (ECC)	18
2.3 Parâmetros sanguíneos no período de transição de vacas leiteiras	19
2.3.1 Lipoproteínas	20
2.3.2 Colesterol	20
2.3.3 Ácidos graxos não esterificados (AGNE)	22
2.3.4 Beta-hidroxibutirato (BHBA)	23
2.4 Doenças metabólicas no período de transição	24
2.4.1 Cetose	25
2.4.2 Lipidose hepática	27
2.5 Utilização da relação gordura: proteína na identificação de cetose	30
2.6 Impacto dos metabólitos sanguíneos AGNE e BHBA na produção de leite e reprodução	31
2.6.1 Produção de leite	31
2.6.2 Reprodução de vacas leiteiras	32
2.7 Colina	33
3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	35

CAPÍTULO II – EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DA COLINA PROTEGIDA RUMINALMENTE EM VACAS LEITEIRAS NO PERÍODO DE TRANSIÇÃO ...

RESUMO	48
ABSTRACT	49
1. INTRODUÇÃO	50
2. MATERIAL E MÉTODOS	52
3. RESULTADO E DISCUSSÃO	60

4. CONCLUSÃO.....	79
5. IMPLICAÇÕES.....	80
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	81
7. ANEXO 1 - CERTIFICADO CEUA.....	89

CAPÍTULO I – COLINA E PERÍODO DE TRANSIÇÃO DE VACAS LEITEIRAS

1. INTRODUÇÃO

A pecuária leiteira busca constantemente o aumento da produção com lucratividade. A combinação das melhores práticas de nutrição, reprodução, manejo, treinamento e capacitação de pessoas, melhoramento genético e instalações, promovem o aumento da produção de leite nos rebanhos. Desta forma, as fazendas mudam substancialmente e de maneira contínua, em todo o mundo. Estas mudanças são sempre desafiadoras.

A necessidade de uma maior demanda produtiva é imposta ao rebanho e com este um maior desafio ao metabolismo dos animais. O equilíbrio entre a ingestão de nutrientes no organismo e a capacidade de processar estes componentes, associado com as necessidades de produção, pode ser comprometido (GONZÁLEZ et al., 2000). O momento de maior desafio sanitário para as vacas leiteiras é durante o pré- e o pós-parto imediato, onde os riscos das enfermidades metabólicas e infecciosas são intensos (GRUMMER et al., 2004). Aproximadamente 75% das doenças ocorrem no primeiro mês após o parto (GOFF, 2006 a), associado principalmente às mudanças que ocorrem nas três últimas semanas de gestação até as três semanas seguintes ao parto, conhecido como período de transição (GRUMMER, 1995; DRACKLEY, 1999).

A transição da vaca gestante não lactante para a não gestante lactante é marcada por intensas mudanças hormonais e metabólicas, associadas à queda da ingestão de alimentos, ao balanço energético negativo, ao grande crescimento do concepto e a consequente alta demanda de nutrientes (GRUMMER, 1995; DRACKLEY et al., 2005).

A aplicação do perfil metabólico sanguíneo, em associação com as características do rebanho, localização geográfica e estado fisiológico dos animais, oferece uma importante ferramenta para o diagnóstico e prevenção de distúrbios metabólicos, muitas vezes presentes na forma subclínica que afetam a saúde, a fertilidade e a capacidade reprodutiva dos rebanhos (GONZÁLEZ, 2000).

Para amenizar as consequências negativas destas alterações e alcançar uma melhor eficiência produtiva, torna-se essencial a adoção de práticas que melhorem o manejo ambiental e nutricional, assim como o monitoramento da saúde das vacas periparturientes. A potencial suplementação de colina na nutrição de vacas em período de transição surge como uma medida suplementar de manejo alimentar, a fim de evitar ou pelo menos amenizar a intensidade dos distúrbios metabólicos, devido ao seu papel no metabolismo de lipídeos por ser a precursora de fosfatidilcolina que por sua vez é necessária para a síntese e exportação de triglicerídeos do fígado.

Na tentativa de verificar os possíveis efeitos na produção e composição do leite,

reprodução e desordens metabólicas de vacas leiteiras no período de transição, trabalhos com a suplementação de colina têm se tornado alvo de pesquisas nos últimos anos.

O presente estudo tem como objetivo avaliar os efeitos da suplementação de colina protegida ruminalmente durante o período de transição, visando melhorar o metabolismo lipídico, incrementar o desempenho produtivo e reprodutivo, bem como reduzir a incidência de enfermidades em vacas leiteiras recém-paridas.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Período de transição em vacas leiteiras

O período de transição é definido como o intervalo compreendido entre as três últimas semanas antes do parto e as três primeiras semanas seguintes ao parto (GRUMMER, 1995). Segundo Grummer (1995) e Drackley (1999) a maioria dos problemas metabólicos ocorre nesta fase do ciclo produtivo e podem facilmente prejudicar toda a expectativa de produção de uma vaca durante a lactação.

De acordo com Dann et al. (1999), a ocorrência de doenças metabólicas e a diminuição da produção de leite que se manifestam no período de transição, estão relacionadas com as intensas mudanças endócrinas e metabólicas que acontecem próximo ao parto. Burhans et al. (2003) afirmam que as perdas econômicas nesta fase podem ser significativas em fazendas comerciais de produção de leite com inadequado manejo de vacas periparturientes.

As alterações que ocorrem no organismo animal durante o período de transição são adaptativas e têm o intuito de preparar a vaca para o final da gestação e o início da lactação (BELL, 1995; DRACKLEY, 1999; ROCHE et al., 2009; WITTEWER, 2000 a,b). Nesse período aproximado de seis semanas ocorrem diversas mudanças hormonais e metabólicas, que influenciam no metabolismo energético, proteico e mineral das vacas e na utilização de nutrientes (BELL, 1995; GRUMMER, 1995).

De acordo com Grummer e Rastani (2004), há redução de aproximadamente 30% do consumo alimentar nas últimas três semanas de gestação. A ingestão de matéria seca (IMS) em vacas é de 1,9% do peso vivo (PV) no dia 21 pré-parto, passando a consumir 1,3% do PV no dia anterior ao parto. Estes autores afirmam ainda que novilhas apresentam uma diminuição na IMS similar à observada no consumo de vacas, consumindo 1,7% e 1,3% do PV em matéria seca (MS) aos 21 dias pré-parto e na véspera do parto, respectivamente. Esta drástica queda na IMS nas semanas que antecedem ao parto é ainda mais intensa em vacas obesas, com

elevado escore de condição corporal (ECC).

Todos esses fatores de estresse parecem favorecer a incidência de desordens metabólicas que estão associadas a esse período. Dentre as diversas doenças que ocorrem no pós-parto, pode-se citar a hipocalcemia, cetose, fígado gorduroso, retenção de placenta, metrite e deslocamento de abomaso (GRUMMER, 1995; GOFF e HORST, 1996; DRACKLEY, 1999; CHUNG et al., 2008; OSPINA et al., 2010a; CHAPINAL et al., 2011; MCART et al., 2012).

As alterações no metabolismo, principalmente durante o período de transição, refletem nas concentrações de metabólitos circulantes no sangue e podem ser mensuradas através do perfil metabólico (PAYNE et al., 1970; PAYNE e PAYNE, 1987; GONZÁLEZ, 2000; WITTWER, 2000 a, b). Para minimizar as alterações metabólicas durante o período de transição, algumas alternativas têm sido sugeridas, como aumentar a densidade de nutrientes na dieta de vacas secas nos últimos 21 dias antes do parto, proporcionar conforto ambiental para minimizar a diminuição do apetite e incluir aditivos na dieta no pré e pós-parto (NRC, 2001).

O aumento da densidade energética da dieta por meio do aumento do teor de CNF durante o período de transição pode ter alguns benefícios (GRUMMER, 1995; HAAR et al., 1999), como permitir que os microorganismos ruminais se adaptem às dietas ricas em concentrado, que serão fornecidas após o parto ou a diminuir a mobilização de ácidos graxos do tecido adiposo relacionadas com distúrbios metabólicos (GRUMMER, 1993; HAAR et al., 1999).

2.2 Balanço energético negativo (BEN) e Escore de condição corporal (ECC)

O balanço energético negativo (BEN) é caracterizado pelo desbalanço temporário entre a alta demanda energética para o parto associado à menor capacidade de ingestão de alimentos pouco antes do parto, fazendo com que esses animais mobilizem as próprias reservas corporais. Essa mobilização de reservas, em especial de tecido adiposo, tem interferência negativa nas funções produtiva e reprodutiva de vacas leiteiras (BUTLER, 2003; ROCHE et al., 2009).

As principais consequências do BEN estão associadas com o desencadeamento do complexo cetose-esteatose hepática (SIMÕES et al., 2006), com o atraso da primeira ovulação pós-parto (BEAM e BUTLER, 1998) e diminuição da eficiência reprodutiva.

De acordo com Rastani et al. (2005) e Poncheki et al. (2015) o tempo médio de duração do BEN, tanto para primíparas quanto para múltiparas é de cinco semanas, mas a duração deste período é evidentemente afetada por inúmeros fatores,

particularmente o volume de leite produzido. A rápida adaptação da vaca a esse desbalanço durante o início da lactação proporciona saúde e produtividade, enquanto que uma baixa adaptação pode ter como consequência múltiplos problemas, incluindo os clínicos e a diminuição da produção leiteira (DUFFIELD et al., 2009).

Um manejo correto no período seco e no período de transição visam minimizar os efeitos do BEN. Diversas são as técnicas para avaliar essa mobilização, dentre elas uma ferramenta importante é monitorar o grau de mobilização de reservas corporais através da avaliação de Escore de Condição Corporal (ECC).

A avaliação do ECC permite avaliar, de forma quantitativa, o grau de deposição ou perda de gordura corporal subcutânea (WITTWER, 2000), sendo um método rápido, prático e sem custos. Seu objetivo é avaliar as reservas de tecido adiposo dos animais, utilizando escalas que variam de 1 (um) a 5 (cinco) pontos, onde o escore 1 representa a vaca excessivamente magra e o escore 5 representa a vaca demasiadamente obesa (WILDMAN et al., 1982; EDMONSON et al., 1989).

Vários estudos tentam mostrar a relação entre a condição corporal com saúde e reprodução de vacas leiteiras (HUZZEY et al., 2007; OSPINA et al., 2010b). Huzzey et al. (2007) e Poncheki et al. (2015) mostraram que vacas que parem gordas, ou, além disso, vacas que perdem 1 ponto ou mais de ECC no início da lactação têm riscos mais altos de enfrentar situações adversas, como maior período de serviço e de intervalo entre partos (WILTBank et al., 2006).

2.3 Parâmetros sanguíneos no período de transição de vacas leiteiras

Segundo González (2000), o uso do perfil metabólico em ruminantes além de monitorar a adaptação metabólica e diagnosticar desequilíbrios de homeostase de nutrientes pode também revelar as causas que estão por trás de uma manifestação de doença nutricional ou metabólica.

As principais vias metabólicas do organismo animal são determinadas pelos componentes bioquímicos analisados. Para representar o metabolismo energético são analisados os níveis de glicose, colesterol, ácidos graxos não esterificados (AGNE) e beta-hidroxibutirato (BHBA). As concentrações circulantes de AGNE e BHBA indicam quão eficiente está sendo a adaptação do animal ao BEN, já que a concentração de AGNE reflete a magnitude da mobilização das reservas de gordura corporal e o BHBA reflete a oxidação incompleta da gordura no fígado (LEBLANC, 2010).

2.3.1 Lipoproteínas

Kaneko et al. (2008) define lipoproteínas como conglomerações de lipídeos e proteínas, classificadas de acordo com a sua densidade, que varia conforme a proporção entre lipídeos e proteínas (MURRAY et al., 2007). Encontram-se suspensas no plasma ou na linfa, tendo como principais funções o transporte da maioria dos lipídeos pelos tecidos e esterificação do colesterol (KANEKO et al., 2008).

São classificadas em lipoproteínas de densidade muito baixa (VLDL), lipoproteínas de baixa densidade (LDL) e lipoproteínas de alta densidade (HDL), e suas principais funções respectivamente, são: exportação de triglicerídeos do fígado para os tecidos periféricos; estágio final do catabolismo das VLDL e transporte de boa parte do colesterol, e; transporte de fosfolipídeos e ésteres de colesterol provindos dos tecidos periféricos para o fígado para serem excretados (MURRAY et al., 2007; GONZÁLEZ, SILVA, 2006).

Segundo Bruss (2008) a capacidade do fígado em sintetizar os componentes proteicos do VLDL é estimulada pela dieta rica em carboidratos. Esse estímulo ocorre devido ao aumento da insulina e menor concentração dos níveis de glucagon no plasma.

A capacidade intrínseca do fígado em sintetizar os componentes lipídicos excede a sua capacidade inerente em sintetizar os componentes proteicos, sendo esse um fator fundamental no desenvolvimento do fígado gorduroso (BRUSS, 2008).

Ruminantes tem uma capacidade limitada em sintetizar e secretar VLDL no fígado, sendo o excesso estocado no próprio órgão. Essa limitação promove uma maior deposição de gordura hepática e de distúrbios metabólicos como fígado gorduroso e cetose que aparecem devido à produção aumentada de corpos cetônicos (BELL, 1995).

A diminuição da síntese de lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL) contribui para o acúmulo de gordura no fígado, sendo isso resultado de uma menor exportação de TG dos hepatócitos (MUKHERJE e GOLLAN, 2002).

2.3.2 Colesterol

Os bovinos, assim como todos os herbívoros, produzem praticamente todo o seu colesterol a partir do fígado (KANEKO et al., 2008). O estímulo para produção de colesterol ocorre através de altas concentrações de insulina, como por exemplo, durante a alimentação. Enquanto altas concentrações de glucagon, durante o jejum, inibem a síntese de colesterol (KANEKO et al., 2008).

O colesterol sintetizado no fígado é exportado através de componentes das proteínas de baixo peso molecular (VLDL) para a circulação sanguínea, sendo utilizado em outros tecidos, ou ainda eliminado nos ácidos biliares (TRALL et al., 2012).

Kaneko et al. (2008) recomenda níveis normais de colesterol entre 80 e 120 mg/dL. Entretanto, POGLIANI e BIRGEL JÚNIOR (2007) consideram um valor de referência entre 94,63 e 146,93 mg/dL para ser utilizado em vacas no final da gestação, e entre 32,2 e 103,3 mg/dL para vacas no início da lactação.

A diminuição da concentração média de colesterol no pré-parto e no dia do parto sugerem diminuição moderada no consumo. A diminuição na síntese de colesterol ocorre quando há restrição alimentar, levando a menor concentração de insulina e aumento de glucagon. Por isso, normalmente a concentração de colesterol está ligada à ingestão de alimentos, havendo comportamento similar entre estes (GRUMMER, 1995). Segundo Guretzky et al. (2006) a concentração de colesterol inferior a 77,3 mg/dL esta associada a baixo consumo voluntário ou a problemas metabólicos (GRUMMER, 1995; GRUMM et al., 1996). Kaneko et al. (2008) recomenda o limite de 80 mg/dL.

O aumento do cortisol próximo ao parto é outro fator que contribui para a diminuição na concentração do colesterol. O glicocorticoide inibe a atividade enzimática no processo de síntese do colesterol, a 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA redutase (KANEKO et al., 2008). A redução nas concentrações de colesterol com a aproximação do parto e seu aumento no pós-parto também foi observada por outros autores (SCHWALM & SCHULTZ, 1976; VAN DEN TOP et al., 1995 a; 1995 b; 1996; KANEENE et al., 1997). Stengärde et al. (2008) e Van Dorland et al. (2009) encontraram resultados semelhantes, relacionando o aumento de consumo com elevação da captação de lipídeos pelo fígado e melhora no balanço energético negativo.

Altas concentrações de colesterol em vacas no pós-parto fazem parte do processo fisiológico. O aumento de mobilização tecidual promovida pela demanda energética e o aumento da síntese de lipoproteínas e hormônios esteroides são responsáveis por este processo (MARGOLLES, 1983; AEGERHARD et al., 2001).

Enquanto baixas concentração séricas de colesterol estão relacionadas com problemas metabólicos (STENGÄRDE, 2010), esteatose hepática (GRUM et al., 1996) e baixo consumo voluntário (GURETZKY et al., 2006).

2.3.3 Ácidos graxos não esterificados (AGNE)

Os AGNE são metabólitos oriundos da quebra de moléculas de gordura das reservas corporais, com o objetivo de fornecer aporte da energia deficitária durante o BEN. Assim, a concentração plasmática de AGNE é frequentemente um indicador para avaliar a intensidade da mobilização das reservas de gordura corporal em vacas leiteiras durante o período periparturiente (BRICKNER et al., 2007).

Quando há falta de energia ocorre mais lipólise do que lipogênese, fazendo com que ocorra maior taxa de hidrólise de triglicerídeos de reserva, que por sua vez gera AGNE e glicerol (LAGO et al., 2004). Uma das primeiras respostas do organismo ao BEN é a mobilização do tecido adiposo, e o tecido esquelético é capaz de utilizar AGNE para gerar energia para sua manutenção (OVERTON e WALDRON, 2004). Estes mesmos autores comentam que a concentração plasmática de AGNE é proporcional à necessidade de energia e também está associada ao inadequado IMS.

A oxidação parcial dos AGNE gera compostos denominados corpos cetônicos, sendo o principal o BHBA, uma importante fonte de energia para ruminantes (LAGO et al., 2004). A concentração deste metabólito é resultado da produção no fígado menos a quantidade utilizada pelos tecidos periféricos. Dessa maneira fica claro que existe uma relação entre a concentração de AGNE e BHBA.

A concentração plasmática dos AGNE, em vacas saudáveis, aumenta a partir dos quinze dias que antecedem o parto alcançando o pico no dia do parto ou no primeiro dia pós-parto, reduzindo sua concentração nos dias seguintes devido ao aumento do CMS (LEBLANC et al., 2005; SOUZA, 2005, GUO et al., 2007; CHUNG et al., 2008; FRIGOTTO et al., 2010; VEIGA, 2013).

LeBlanc et al. (2005) sugerem que as mensurações das concentrações plasmáticas ou séricas de AGNE podem ser realizadas já no pré-parto (4 a 10 dias antes do parto) uma vez que as vacas podem começar a mobilizar reservas energéticas na última semana antes do parto, principalmente as vacas sob maior risco de desordens metabólicas.

Diversos autores mencionam os valores de referência para a análise dos AGNE, sendo que muitos diferenciam essas concentrações em limiares e os correlaciona com produção de leite, reprodução e incidência de doenças metabólicas. A Tabela 1 mostra alguns valores de referência para os ácidos graxos não esterificados.

TABELA 1. Valores de referência de ácidos graxos não esterificados para vacas leiteiras no período de transição.

Autores	Valores AGNE	Valores AGNE
	Pré-parto (mmol/L)	Pós-parto (mmol/L)
Queiroz-Rocha et al. (2009)	$\leq 1,0$	0,1 a 1,4
Ospina et al. (2010b)	$\leq 0,33$	$\leq 0,72$
Chapinal et al. (2011)	$\leq 0,5$	$\leq 1,0$
Kaneko et al. (2008)	0,25 a 0,40	0,25 a 0,40

2.3.4 Beta-hidroxibutirato (BHBA)

Beta-hidroxibutirato, acetoacetato e acetona são os três compostos normalmente agrupados como corpos cetônicos e são produzidos pelo fígado oriundos do metabolismo de lipídeos nos ruminantes (LEHNINGER, 2006).

O aumento na concentração de corpos cetônicos caracteriza o quadro de cetose. Esta doença reduz o consumo alimentar e por consequência a produção de leite (OSPINA et al., 2010b; CHAPINAL et al., 2011; MCART et al., 2012).

A concentração plasmática desse metabólito aumenta linearmente nos últimos três dias que antecedem ao parto (LEBLANC et al., 2005) mas seu aumento é mais expressivo após o parto, atingindo o pico aproximadamente entre o quinto e o décimo dia de lactação, decrescendo sua concentração nos dias seguintes, particularmente em vacas sadias (GUO et al., 2007; CHUNG et al., 2008; FRIGOTTO et al., 2010; MCART et al., 2012; VEIGA, 2013).

Os valores de referência para beta-hidroxibutirato variam entre os autores e suas regiões de estudo. A Tabela 2 apresenta os valores referenciais de diversos autores.

TABELA 2. Valores de referência de beta-hidroxibutirato para vacas leiteiras no período de transição..

Autores	Valores BHBA	Valores BHBA
	Pré-parto (mmol/L)	Pós-parto (mmol/L)
Queiroz-Rocha et al. (2009)	0,22 - 0,88	0,22 – 1,18
Ospina et al. (2010b)	-	$\leq 0,97$
Chapinal et al. (2011)	$\leq 0,60$	$\leq 1,2$
Kaneko et al. (2008)	$\leq 0,97$	$\leq 0,97$

Diversos estudos têm sido realizados para validar a metodologia campo da mensuração de beta-hidroxibutirato utilizando tiras-teste de medição de cetona.

Iwersen et al. (2009) compararam dois métodos de medição de cetose subclínica: concentração de BHBA fotometricamente e determinação de BHBA com o uso de tiras-teste (Precision Xtra Meter, Abbott Laboratories). Os autores consideraram limiares de 1,2 a 1,4 mmol/L de BHBA para avaliar a especificidade e sensibilidade na determinação de cetose subclínica e tiveram como resultado 88 a 96% e 96 a 97%, respectivamente. A correlação entre essas duas metodologias foi alta ($r = 0,95$) e os autores concluíram que o uso de tiras-teste é uma boa ferramenta no diagnóstico de cetose subclínica nas propriedades.

2.4 Doenças metabólicas no período de transição

Programas de monitoramento específicos para vacas recém-paridas têm sido empregados em alguns rebanhos leiteiros especializados. A avaliação clínica diária das vacas durante os primeiros 10-14 dias após o parto é uma excelente forma de monitorar a saúde dos animais durante este importante período do ciclo produtivo de vacas leiteiras, diagnosticando as doenças metabólicas que muitas vezes se apresentam na forma subclínica, afetando além da saúde, a fertilidade e a capacidade produtiva (LEBLANC et al., 2006).

O balanço energético negativo e todas as alterações que ocorrem durante o período de transição são os principais responsáveis pelo surgimento de desordens e distúrbios metabólicos em vacas leiteiras durante este período. Diversos trabalhos demonstram que a maior prevalência das principais doenças que acometem vacas leiteiras ocorre no início da lactação.

VAN DORP et al. (1999) avaliaram a ocorrência de desordens em vacas leiteiras ao longo da lactação. De todos os distúrbios avaliados, 47,2% dos casos ocorreram nos primeiros 30 dias após o parto e outros 40,5% entre o dia 31 e o dia 150. Isso deixa claro o maior risco de desenvolvimento de doenças durante o período de transição. Para FLEISCHER et al. (2001) as principais doenças ocorrem em média até o dia 27 após o parto e o risco de incidência para a vaca dentro de uma lactação é de 23,6% para metrite, 8,9% para retenção de placenta e 7% para paresia da parturiente (hipocalcemia). Neste mesmo trabalho o risco de incidência de cetose clínica, 1,7%, e deslocamento de abomaso, 1%, foram relativamente baixos, entretanto também ocorrem no primeiro mês após o parto.

LEBLANC et al. (2006) concluíram que até 75% dos casos de doenças e distúrbios que acometem vacas leiteiras ocorrem durante o primeiro mês após o parto, indicando que podem estar associadas ao manejo no período de transição. HUZZEY et al. (2007) afirmaram que grande parte das ocorrências está associada a uma queda

prévia no CMS, ou seja, antes de apresentar sinais clínicos de determinada doença, o animal reduz o consumo. Mais especificamente, HUZZEY et al. (2007) correlacionaram uma maior incidência de metrite com uma prévia redução do consumo alimentar no período pré-parto.

Limites aceitáveis para a ocorrência de doenças no pós-parto foram sugeridos por OVERTON e NYDAM (2009), sendo de no máximo 8% para retenção de placenta, 6% para hipocalcemia clínica, 3% para deslocamento de abomaso e 2% para cetose clínica. Segundo LEBLANC et al. (2006) aproximadamente 75% das ocorrências de enfermidades em gado leiteiro ocorrem no mês seguinte ao parto e são antecipadas por mudanças no consumo alimentar e na função imunitária semanas antes do parto.

Grande parte das doenças típicas deste período ocorre de forma subclínica onde o proprietário não consegue identificar que o animal está com problemas. As formas subclínicas podem reduzir a produtividade de 10 a 30%, representando uma grande perda para o produtor (GOUDA et al., 2000). Por isso, OSPINA et al. (2010a) destacaram a importância de um monitoramento mais efetivo, identificando doenças subclínicas para assim melhorar o manejo envolvendo tal condição e por fim evitar ou diminuir as perdas em produtividade decorrentes desses eventos. LAGO et al. (2004) demonstraram ser possível detectar doenças subclínicas com a utilização do perfil metabólico de vacas leiteiras, principalmente durante o período de transição.

2.4.1 Cetose

Cetose é uma alteração no metabolismo energético que acomete principalmente vacas leiteiras durante o período periparturiente. Ocorre quando há um excesso na produção e concentração de corpos cetônicos, em função da maior demanda energética para a produção de leite (ANDERSON, 1988; BAIRD, 1992; DUFFIELD et al., 2009; ROCHE et al., 2009).

Quanto maior a mobilização das reservas lipídicas, maior a taxa de captação pelo fígado e maior será a saturação das vias hepáticas. Assim, a concentração dos corpos cetônicos aumenta nos fluidos corporais (cetonemia, cetonúria e cetolácia), evidenciando um quadro de cetose (DUFFIELD, 2000; HERDT, 2000; DRACKLEY et al., 2001). Segundo LeBlanc (2010) a maior frequência de casos de cetose ocorre na segunda semana após o parto, quando acontece a maior mobilização de gordura corporal.

Os animais com cetose apresentam redução na produção de leite, anorexia e perda de peso. Podem ser observadas ainda letargia ou hiperexcitação e distúrbios metabólicos como hipercetonemia, hipoinsulinemia e redução do glicogênio hepático

(BAIRD, 1982). A cetose pode ocorrer na forma clínica ou subclínica (DOHOO e MARTIN, 1984).

Na cetose clínica há uma rápida perda de escore corporal, queda da produção de leite, fezes secas, anorexia, prostração, odor de cetona no ar expirado, alta concentração de corpos cetônicos nos fluidos corporais e ocasionalmente pode evoluir apresentando sinais nervosos (INGVARTSEN, 2006; RADOSTITS et al., 2007; DUFFIELD et al., 2009). Enquanto isso, a cetose subclínica caracteriza-se pelo excesso dos níveis circulantes de corpos cetônicos nos fluidos orgânicos (leite, soro e urina) e a não apresentação de sinais clínicos (ANDERSON, 1988; DUFFIELD, 2000; GONZÁLEZ, 2000). Concentração sérica superior ou igual a 1,2 mmol/L de beta-hidroxibutirato (BHBA) é considerada cetose subclínica, provocando impactos na saúde e na produção do animal (DUFFIELD, 2000; DUFFIELD et al., 2009).

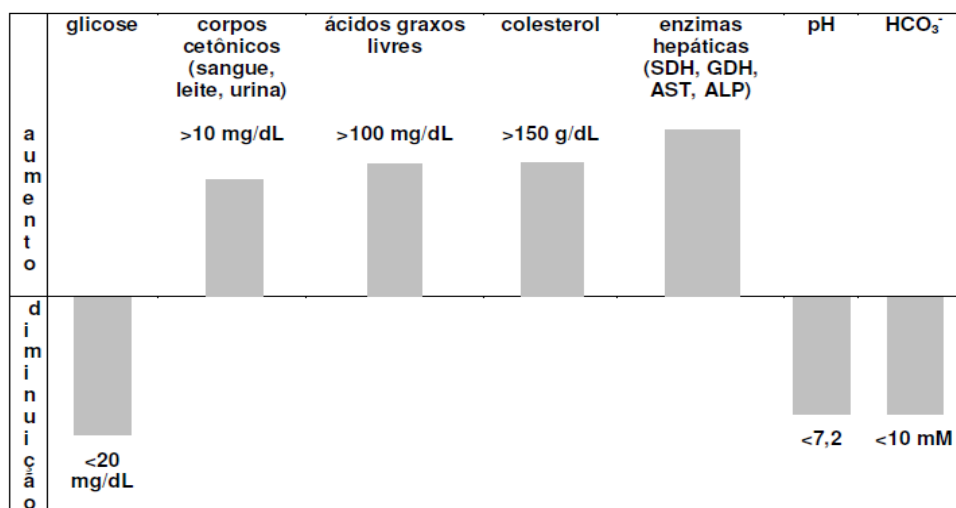
Ainda segundo Duffield (2000), o impacto econômico provocado pela cetose subclínica é grande, devido à perda de peso do animal, o menor índice de fertilidade e aumento da ocorrência de enfermidade secundárias.

Assim, há também o aumento do risco dos animais com cetose subclínica desenvolverem outras enfermidades, como por exemplo, o deslocamento de abomaso (DOHOO e MARTIN, 1984; DUFFIELD et al., 1997; DUFFIELD et al., 2009; OSPINA et al., 2010 a,b). Neste caso, observa-se também aumento nos níveis de colesterol e enzimas sinalizadoras de lesão hepática devido à grande mobilização de reservas de gordura e possíveis danos ao fígado.

Os relatos de prevalência de cetose subclínica variam de 7% a 14% nos primeiros meses de lactação (DOHOO e MARTIN, 1984; DUFFIELD et al., 1997) e seu pico ocorreu nas duas primeiras semanas após o parto (DUFFIELD et al., 1997, 1998, 2000). No entanto, uma prevalência de 34% foi relatada por Kauppinen (1983) e Duffield et al. (1997). A incidência de cetose subclínica pode ser até 80% em alguns rebanhos, sendo muito maior do que 2 a 15% de cetose clínica (DUFFIELD, 2000).

Já Oetzel (2004) relatou que cerca de 30% das vacas podem ter concentrações sanguíneas elevadas de BHBA no início da lactação. McArt et al. (2012) encontraram uma incidência de 23% nos 16 primeiros dias de lactação, e o pico de ocorrência no quinto dia após o parto. Ramires (2013) encontrou valores semelhantes no Paraná, com 26% de taxa de incidência e pico de BHBA no 5º dia pós-parto. Assim, o diagnóstico precoce desta enfermidade é muito importante.

A Figura 1 abaixo apresenta o perfil metabólico de animais com cetose, através da avaliação da condição energética (glicose, BHBA, AGNE e colesterol) e da avaliação da evolução da doença através da análise da atividade das enzimas hepato-específicas.



Fonte: González et al. (2000).

FIGURA 1 – Perfil metabólico na cetose em bovinos.

O controle da cetose está relacionado diretamente com uma nutrição adequada do animal durante o período de transição. O correto manejo de condição corporal (vacas chegarem ao final de gestação com escore entre 3,00 e 3,50) associado a mudanças pequenas na alimentação no periparto e dietas ricas em silagem ou carboidratos altamente solúveis visam minimizar a ocorrência de cetose. Além desses primeiros cuidados, o uso de precursores gliconeogênicos como o propilenoglicol, niacina e colina são alternativas para reduzir a incidência de cetose no rebanho (SANTOS, 2006; GONZÁLEZ e SILVA, 2006).

2.4.2 Lipidose hepática

Lipidose hepática, esteatose hepática ou fígado gorduroso são sinônimos de uma desordem metabólica multifatorial que acomete vacas leiteiras no período periparto, sendo caracterizada pela presença excessiva de lipídios dentro do fígado, que ocorre quando há um acúmulo de triglicerídeos acima da capacidade hepática em liberá-los como lipoproteínas (MACLACHLAN e CULLEN, 1998). A concentração de lipídios que se acumulam nos hepatócitos dos animais acometidos pela doença varia de 60 a 125 g/dia, nos primeiros dez dias pós-parto (AMETAJ et al., 2002).

A degeneração gordurosa não é uma doença específica, mas pode ocorrer como sequela de uma variedade de perturbações do metabolismo normal. MACLACHLAN e CULLEN (1998) apresentaram os mecanismos potenciais responsáveis pelo acúmulo excessivo de gordura no fígado, que incluíram os seguintes: a) entrada excessiva de ácidos graxos no fígado, que pode ocorrer pela ingestão excessiva de gordura pela alimentação ou pela mobilização do aumento de

triglicerídeos do tecido adiposo; b) função anormal do hepatócito, que pode levar ao acúmulo excessivo de triglicerídeos no hepatócito devido à redução, nesta célula, da oxidação dos ácidos graxos; c) ingestão excessiva de carboidratos na alimentação resultando na síntese aumentada de ácidos graxos, com formação excessiva de triglicerídeos nos hepatócitos; d) aumento na reesterificação de ácidos graxos a triglicerídeos; e) redução na síntese de apolipoproteínas e subsequente decréscimo na produção e exportação de lipoproteínas pelo hepatócito; f) decréscimo na secreção de lipoproteínas pelo fígado.

Deve ser frisado que esses são mecanismos potenciais e que mais de um defeito pode ocorrer em um determinado distúrbio hepático. Independente da causa, o aspecto macroscópico do fígado com degeneração gordurosa é bastante característico. Com o acúmulo progressivo de lipídios, o fígado aumenta de volume e torna-se amarelado.

Em casos menos acentuados, lipídios podem acumular-se somente em regiões específicas do lóbulo hepático, como a região centro-lobular, conferindo assim, uma acentuação do padrão lobular ao fígado. Em casos mais graves, todo o fígado está difusamente afetado; o órgão pode tornar-se consideravelmente aumentado de volume e apresentar uma textura gordurosa, onde vacúolos lipídicos são facilmente detectáveis no citoplasma dos hepatócitos (MACLACHLAN e CULLEN, 1998).

A síntese de lipoproteínas é um papel fundamental na ocorrência ou não da doença, isto é, qualquer fator que interfira nessa síntese resultará em acúmulo de gordura no fígado. As hepatotoxinas, deficiência de colina e jejum prolongado são exemplos de alteração na síntese de lipoproteínas (GONZÁLEZ e SILVA, 2006).

O correto manejo alimentar é um fator chave para a diminuição da ocorrência dessa desordem. Vacas leiteiras que recebem grandes quantidades de alimentos energéticos no período seco estão mais dispostas a chegarem com sobrepeso ao parto e por consequência a desenvolverem a doença (GONZÁLEZ e SILVA, 2006).

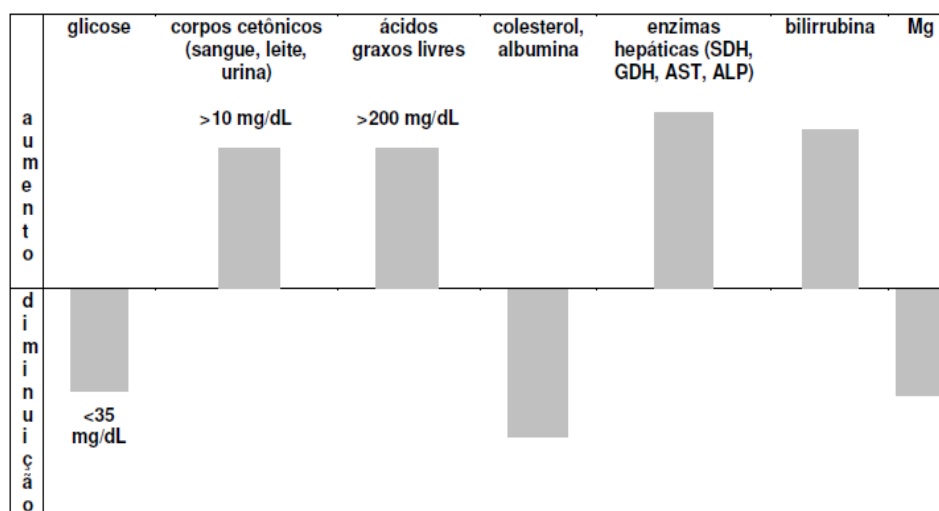
Em vacas obesas ($ECC \geq 4,0$), a lipólise do tecido adiposo é mais intensa durante situações metabolicamente e imunologicamente desafiadoras, como o período periparturiente, do que em vacas com ECC normal (RUKKWAMSUK et al., 1998). Vacas obesas têm uma maior diminuição na ingestão de alimentos em tais situações e, portanto, têm BEN mais acentuado (STOCKDALE, 2001).

Geralmente, animais com lipidose hepática também são acometidos de outras desordens, tais como, cetose, febre do leite, mastite e metrite, deslocamento de abomaso e retenção de placenta (MERCK, 1996).

É importante destacar que a manutenção da saúde do fígado é importante para que as vacas leiteiras de alta produção passem por um período de transição tranquilo,

uma vez que aumento na infiltração gordurosa no fígado diminui as funções vitais desse órgão, e por consequência, reduzem o fluxo ou secreção da bile (BOBE et al., 2004), reduzem a síntese de ésteres de colesterol (KATOH, 2002) e aumentam o estresse oxidativo (BERNABUCCI et al., 2005). Os sinais clínicos da lipidose hepática não são específicos. O grau de infiltração gordurosa depende do peso corporal e do grau de deficiência no consumo energético. Em casos severos (>10% de gordura infiltrada), hipoglicemia, cetonemia, aumento de AGNE e BHBA e de enzimas hepáticas (AST e GGT) são observadas, em conjunto com a queda nos níveis de colesterol, albumina e insulina (GONZÁLEZ e SILVA, 2006). A mortalidade dessa doença pode chegar a 25% dos casos em animais não tratados (AMETAJ, 2005).

Segundo González e Silva (2006), o uso dos perfis metabólicos é uma ferramenta útil na determinação do fígado gorduroso, para isso, é necessário medir parâmetros que avaliem a condição energética (glicose, AGNE, BHBA, colesterol) e como prova fundamental a determinação das enzimas hepáticas, de albumina e bilirrubina para avaliar o grau de lesão hepática (Figura 2).



Fonte: González et al. (2000).

FIGURA 2 – Perfil metabólico na lipidose hepática em bovinos.

Vacas leiteiras com fígado gorduroso têm a saúde prejudicada, menor produção leiteira e desempenho reprodutivo comprometido durante várias semanas, até que as concentrações de triglicerídeos no fígado voltem aos níveis basais o que sugere que o fígado gorduroso é associado com alterações metabólicas e hormonais (BOBE et al., 2004).

Estratégias para prevenir a excessiva lipomobilização podem ser agrupadas em três categorias: redução da concentração de AGNE através da diminuição da lipólise; aumento da oxidação completa dos AGNE em tecidos extra-hepáticos, ou incremento na taxa de exportação hepática através do VLDL (GRUMMER, 2008).

2.5 Utilização da relação gordura: proteína na identificação de cetose

A relação entre a porcentagem de gordura e porcentagem de proteína (RGP), ambos os parâmetros avaliados no leite, no primeiro controle mensal após o parto, auxiliam a dimensionar a mobilização da gordura corporal. Esta talvez seja uma das maneiras mais baratas de se avaliar a qualidade do manejo das vacas durante o período de transição, já que a análise da composição do leite é realizada corriqueiramente nas propriedades inscritas no controle leiteiro. No Paraná, desde 1966 a Associação Paranaense de Criadores de Bovinos da Raça Holandesa (APCBRH) oferece o programa de controle leiteiro oficial, onde informações como essa podem ser facilmente obtidas.

O uso da relação gordura:proteína (G:P) do leite pode ser um indicativo na avaliação do status energético do animal e da cetose subclínica (DUFFIELD et al., 2009), sendo também um indicador de lipomobilização e do BEN no pós-parto (TONI et al., 2011).

Distúrbios metabólicos podem ser refletidos na composição química do leite; portanto, alterações nos teores de gordura e proteína em amostras de leite individual de vacas durante a lactação podem sugerir deficiências nutricionais (ČEJNA e CHLADEK, 2005).

Uma vaca em balanço energético negativo mobiliza suas reservas de gordura a fim de atender sua demanda energética. Uma parte dos ácidos graxos mobilizados são diretamente incorporados na gordura do leite, resultando em um aumento da porcentagem de gordura do leite. Em contrapartida, é comum que a porcentagem de proteína do leite se reduza no início da lactação devido à redução do aporte energético (DUFFIELD et al., 2009). Poncheki (2015) ao analisar aproximadamente 257.847 primeiros controles mensais da APCBRH, estimou uma correlação positiva e de alta magnitude ($r = 0,85$) entre a RGP e a porcentagem de gordura. Já a correlação entre a RGP e a porcentagem de proteína foi negativa e de média magnitude ($r = -0,23$).

Duffield e Bagg (2002) propuseram que este indicador deve ser aplicado ao rebanho todo, e não feito de maneira a avaliar cada animal individualmente. Segundo Čejna e Chladek (2005) a RGP ideal é de 1,2 a 1,4. Valores mais baixos são susceptíveis de acidose ruminal subclínica, que pode colocar em risco o desempenho reprodutivo de vacas e aumentar a possibilidade de desenvolvimento de distúrbios do metabolismo mineral. A RGP maior que 1,4 sugere sinais de déficit de energia e cetose subclínica se corpos cetônicos estiverem presentes.

Em estudo observacional realizado por Toni et al. (2011) em três rebanhos comerciais, constatou-se que animais com RGP muito elevada apresentaram maior

incidência de doenças e maior risco de descarte no início da lactação. Neste mesmo estudo ainda se observou que animais com alta RGP tiveram redução na produção de leite, principalmente no início da lactação.

Heuer et al. (1998) demonstraram que vacas com RGP acima de 1,5, têm um risco maior de incidência de mastite, laminite, cetose e cisto ovariano. Nesse estudo também demonstraram haver um impacto negativo na reprodução e maior susceptibilidade de desenvolver outras doenças como, deslocamento de abomaso e esteatose hepática. Este trabalho também mostrou que RGP acima de 1,5 está associada com vacas que perderam mais ECC no início da lactação, indicando a associação entre mobilização corporal e aumento da RGP.

O perfil da relação entre estes dois componentes torna-se uma ferramenta prática, barata e não invasiva de utilização nos rebanhos leiteiros para monitorar a prevalência de cetose subclínica no rebanho. Se mais de 40% das vacas com menos de 30 dias pós-parto apresentarem uma RGP do leite igual ou maior que 1,5, esta relação é sugestiva de um rebanho com alta incidência de cetose subclínica (DUFFIELD et al., 2009).

Assim, pode-se afirmar que a RGP é uma ferramenta prática e que não implica em custos adicionais ao produtor, podendo ser aplicada no primeiro controle leiteiro após o parto para auxiliar no diagnóstico da eficiência do manejo de vacas leiteiras no período de transição, principalmente quando esta análise é realizada nos primeiros 15 dias após o parto.

2.6 Impacto dos metabólitos sanguíneos AGNE e BHBA na produção de leite e reprodução

A concentração dos metabólitos sanguíneos, em especial de AGNE e de BHBA, tem influência direta na produção e reprodução de vacas leiteiras, além de indicar maior incidência das principais enfermidades que acometem as vacas no período periparturiente (GRUMMER, 1995, GOFF & HORST, 1997; DRACKLEY, 1999; CHUNG et al., 2008; OSPINA et al., 2010a, OSPINA et al., 2010b, CHAPINAL et al., 2011).

2.6.1 Produção de leite

Concentrações elevadas de BHBA na primeira semana pós-parto possuem um impacto maior na saúde e produção de leite de vacas que concentrações elevadas em semanas seguintes (DUFFIELD et al., 2009).

Os altos níveis séricos de AGNE parecem exercer maior influência na produção de leite quando comparados às maiores concentrações de BHBA. Essa maior associação entre concentrações de AGNE e produção de leite ocorre provavelmente devido à relação fisiológica direta entre AGNE e a mobilização de lipídios (OSPINA et al., 2010b).

Ospina et al. (2010b) correlacionaram os efeitos das altas concentrações de AGNE no pré-parto e de AGNE e BHBA no pós-parto com a produção leiteira acumulada aos 305 dias e verificaram que tanto vacas quanto novilhas no pré-parto produziram 683 kg a menos quando, concentrações de AGNE foram superiores a 0,33 mmol/L. No pós-parto, vacas adultas apresentaram menor produção de leite, 647 kg a menos, quando AGNE foi $\geq 0,72$ mmol/L e, quando BHBA foi ≥ 10 mg/dL a produção foi inferior em 393 kg de leite. Já novilhas no pós-parto produziram em 305 dias, 488 kg a mais quando as concentrações de AGNE foram $\geq 0,57$ mmol/L e 403 kg a mais quando BHBA foi ≥ 9 mg/dL. Uma possível explicação para este distinto comportamento entre primíparas e múltiparas é o conceito de homeorrese, isto é, novilhas necessitam equilibrar a manutenção, a produção leiteira e o crescimento e como resultado elas mobilizam mais energia na forma de lipídeos prontamente disponíveis do que as vacas.

Chapinal et al. (2011) avaliaram a associação dos metabólitos no período de transição com a produção de leite e demonstraram que vacas com altos níveis de AGNE e BHBA na primeira e segunda semana após o parto ($\geq 0,7$ e $\geq 1,0$ mmol/L para AGNE e $\geq 1,4$ e $\geq 1,2$ mmol/L para BHBA, respectivamente) foram associados com menor produção de leite no primeiro controle leiteiro oficial.

Um recente estudo mostrou que vacas com cetose produziram 2,2 kg/leite a menos por dia para os primeiros 30 dias de controle comparadas com vacas que não apresentaram cetose (MCART et al., 2012).

2.6.2 Reprodução de vacas leiteiras

O desempenho reprodutivo de vacas leiteiras é associado negativamente com o BEN no início da lactação (BUTLER, 2003), uma vez que durante o BEN, extensa lipólise é observada e produtos do metabolismo lipídico parecem influenciar a capacidade dos oócitos e o desenvolvimento embrionário.

Vacas com maior perda corporal durante os primeiros 65 dias pós-parto estão mais propensas a não ovular após o período voluntário de espera (PVE) e apresentaram menores taxas de prenhes na primeira inseminação artificial (SOUZA, 2005).

Em estudo realizado por Ribeiro et al. (2011) demonstrou-se que vacas afetadas com doenças clínicas, subclínicas ou ambas aumentaram a anovulação, redução de prenhes por IA e aumento das taxas de aborto. Estes dados sugerem que animais doentes no início da lactação sofrem impacto na sua fertilidade, ou seja, manter um animal saudável minimiza os riscos de problemas clínicos e subclínicos, beneficiando a fertilidade dessas vacas.

Ospina et al. (2010b) demonstraram que vacas no pós-parto com excessiva mobilização corporal reduziram a chance de prenhes no PVE (menos 16% de taxa de prenhes em vacas com AGNE $\geq 0,72$ mmol/L). Além disso, concentrações elevadas de AGNE e BHBA diminuíram as chances de concepção. Novamente, assim como no desempenho produtivo, níveis de AGNE acima dos limiares indicados geralmente estão mais associados com desempenho reprodutivo do que BHBA, provavelmente pela maior relação fisiológica entre AGNE e BEN (HERDT, 2000).

A cetose é uma das doenças metabólicas que mais está associada à queda no desempenho reprodutivo. É importante frisar que a saúde animal pré e pós-parto refletem na reprodução por pelo menos dois meses. Vacas leiteiras que apresentaram cetonemia durante as primeiras semanas de lactação reduziram a probabilidade de prenhes na primeira inseminação (WALSH et al., 2007).

No estudo realizado por Walsh et al. (2007) em que verificaram o intervalo médio até a prenhes entre vacas com cetose e vacas sem cetose, concluiu-se que o intervalo até a nova prenhes foi de 108 dias para vacas sem cetose e de 124 dias para animais que apresentaram cetose subclínica na primeira ou segunda semana pós-parto.

2.7 Colina

A colina é uma vitamina hidrossolúvel produzida pelos microorganismos ruminais, sua classificação como vitamina é questionada por alguns nutricionistas, uma vez que a mesma é necessária em quantidades maiores do que outras vitaminas, além de ser um componente de fosfolipídios (lecitina) e um neurotransmissor (acetilcolina). A sua demanda pelo animal pode exceder a quantidade produzida no rúmen, especialmente em vacas leiteiras durante o período de transição.

A colina tem como funções a participação na síntese de lecitina, esfingomielina e acetilcolina. A lecitina por sua vez, participa da absorção e transporte das gorduras no fígado e da posterior mobilização e transporte das gorduras hepáticas, participa das membranas celulares (função estrutural) e partículas

subcelulares. A esfingomielina participa do metabolismo nervoso e a acetilcolina é a substância mediadora da atividade nervosa, sendo responsável pela transmissão dos impulsos nervosos. Sua absorção ocorre no jejuno e íleo pela bomba de sódio e potássio. A deficiência da colina leva a problemas de mobilização de gordura hepática pela redução das lipoproteínas transportadoras, ricas em lecitina, que contém a colina. (ZEOULA & GERON, 2006).

As bactérias ruminais degradam a maior parte desse nutriente fornecido nas dietas, sendo portanto recomendado que esta vitamina seja incorporada à ração na forma protegida para se evitar a ação dos microorganismos do rúmen (Ondarza, 2000). A microencapsulação é um processo comumente utilizado para proteger uma substância da degradação ruminal. Microcápsulas podem ser formuladas para permitir a liberação controlada do suplemento em um local desejado, como no intestino, melhorando a sua eficácia e ação (PINOTTI et al., 2002).

Diversos estudos foram conduzidos com o objetivo de avaliar a produção de leite em vacas suplementadas com colina protegida. Pires e Grummer (2009) compararam 16 estudos, sendo que em seis houve aumento significativo na produção de leite ($P < 0,05$), e em um houve tendência em aumentar a produção de leite ($P < 0,15$). No entanto, não houve relação entre melhor resposta obtida e vacas de produções muito elevadas, de forma que as maiores respostas foram obtidas em vacas com produções médias de 30 a 35 kg de leite por dia.

Além dos efeitos de desempenho, é importante preocupar-se também com a saúde dos animais. Vários estudos tem sido conduzidos para avaliar os efeitos da suplementação de vacas leiteiras com colina protegida da degradação ruminal sobre a saúde e o metabolismo hepático. Vacas leiteiras no periparto e início da lactação, mobilizam grande quantidade de ácidos graxos do tecido adiposo para poderem atender os seus requisitos energéticos, de forma que, com isso aumentam os níveis de ácidos graxos não esterificados (AGNE) na corrente sanguínea (PIEPENBRINK e OVERTON, 2003). Devido a capacidade hepática de oxidar ácidos graxos e de exportá-los como VLDL ser baixa em ruminantes (GRUMMER, 1993), o acúmulo excessivo de AGNE no fígado pode levar a uma esteatose hepática, reduzindo assim a capacidade do fígado em promover a gliconeogênese a partir do propionato (OVERTON et al., 1999), principalmente, e também reduzindo a capacidade hepática de metabolizar a amônia em uréia (STRANG et al., 1998).

Desta forma a exigência de se aumentar a exportação hepática de triglicerídeos é mais crítica durante a primeira fase da lactação, o que justificaria a suplementação de colina neste período como forma de aumentar a síntese de VLDL (COOKE et al., 2007).

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AEBERHARD, K.; BRUCKMAIER R. M.; BLUM, J. W. Metabolic, enzymatic and endocrine status in high yielding dairy cows – Part 2. **J. Vet. Med. A Physiol. Pathol. Clin. Med.**, v.48, n.2, p.111–127, 2001.

AMETAJ, B. N., et al. Acute phase response indicates inflammatory conditions may play a role in the pathogenesis of fatty liver in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 85 (suppl. 1):189, 2002 (Abstr.)

AMETAJ, B.N. A new understanding of the causes of fatty liver in dairy cows. **Advances in Dairy Technology**, v.17, p.97-112, 2005.

ANDERSON, L. Subclinical ketosis in dairy cows. **Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.**, v.4, n.2, p.233–248, 1988.

BAIRD, D.G. Primary ketosis in the high producing dairy cow: clinical and subclinical disorders, treatment, prevention and outlook. **Journal of Dairy Science**, v.65, p.1- 10, 1982.

BEAM, S.W., BUTLER, W.R. Energy balance, metabolic hormones, and early postpartum follicular development in dairy cows fed prilled lipid. **Journal of Dairy Science**, v.81, p.121-131, 1998.

BELL, A. W. Regulation of organic nutrient metabolism during transition from late pregnancy to early lactation. **Journal of Animal Science**, v.73, p.2820-2833, 1995.

BERNABUCCI, U., et al. Influence of body condition score on relationships between metabolic status and oxidative stress in periparturient dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.88, p.2017-2026, 2005.

BOBE, G., YOUNG, J.W., BEITZ, D.C. Pathology, etiology, prevention, and treatment of fatty liver in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.87, p.3105-3124, 2004.

BRICKNER, A.E., RASTANI, R. R., GRUMMER, R. R. Technical Note: Effect of sampling protocol on plasma non esterified fatty acid concentration in dairy cows. **Journal Dairy Science**, v.90, p. 2219-2222, 2007.

BRUSS, M.L. Lipids and ketones. IN: KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L. (eds.), In: **Clinical biochemistry of domestic animals**. 6.ed. San Diego: Academic Press, p.81-115, 2008.

BURHANS, W. S.; BELL, A. W.; NADEAU, R. et al. Factors associated with transition cow ketosis incidence in selected New England herds. **Journal of Dairy Science**, v.86, suppl.1, p.247, 2003. (Abstracts).

BUTLER, W.R. Energy balance relationships with follicular development, ovulation and fertility in postpartum dairy cows. **Livestock Production Science**, v.83, p.211-218, 2003.

CAMERON, R. E. B., et al. Dry cow diet, management, and energy balance as risk factors for displaced abomasum in high producing dairy herds. **Journal of Dairy Science**, v.81, p.132–139, 1998.

CAMPOS, R. et al. Indicadores do controle endócrino em vacas leiteiras de alta produção e sua relação com a composição do leite. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.33, n.2, p.147-153, 2005a.

ČEJNA, V., CHLÁDEK, G. The importance of monitoring changes in milk fat to milk protein ratio in Holstein cows during lactation. **Journal of Central European Agriculture**. v.6, p.539-546, 2005.

CHAPINAL, N.; et al. The association of serum metabolites with clinical disease during the transition period. **Journal of Dairy Science**, v. 94, p.4897–4903, 2011.

CHUNG, Y.M. et al. Effects of prepartum dietary carbohydrate source and monensin on periparturient metabolism and lactation in multiparous cows. **Journal of Dairy Science**, v. 91, p.2744-2758, 2008.

COOKE, R.F.; RIO, N.S.; CARAVIELLO, D.Z.; BERTICS, S.J.; RAMOS, M.H.;

GRUMMER, R.R. Supplemental choline for prevention and alleviation of fatty liver in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v.90, p.2413-2418, 2007.

DANN, H. M.; VARGA, G. A.; PUTMAN, D. E. Improving energy supply to late gestation and early postpartum dairy cows. **J. Anim. Sci.**, v.82, n.8, p.1765-1778, 1999.

DOHOO, I. R.; MARTIN S. W. Subclinical ketosis: Prevalence and associations with production and disease. **Cam. J. Comp. Med.**, v.48, n.1, p. 1-5, 1984.

DRACKLEY, J. K.; DANN, H. M.; DOUGLAS, G. N. et al. Physiological and pathological adaptations in dairy cows that may increase susceptibility to periparturient diseases and disorders. *Ital. J. Anim. Sci.*, v.4, n.4, p.323-344, 2005.

DRACKLEY, J. K.; OVERTON, T. R.; DOUGLAS, G. N. Adaptations of glucose and long-chain fatty acid metabolism in liver of dairy cows during the periparturient period. **Journal of Dairy Science**, v.84, Supl., p. E100-E112, 2001.

DRACKLEY, J. K. Biology of dairy cows during the transition period: the final frontier? **Journal of Dairy Science**, v.82, p.2259-2273, 1999.

DUFFIELD, T. F.; BAGG, R. Herd level indicators for the prediction of high-risk dairy herds for subclinical ketosis. In: Annual Convention of the American Association of Bovine Practitioners, 35., 2002, Ohaio. **Proceedings...Ohaio**, 2002, p.175-176.

DUFFIELD, T. F.; KELTON, D. F.; LESLIE, K. E. Use of test day milk fat and milk protein to detect sub-clinical ketosis in dairy cattle in Ontario. **Can. Vet. J.**, v.38, n.11, p.713-718, 1997.

DUFFIELD, T. Subclinical ketosis in lactating dairy cattle. **Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.**, v. 16, n.2, p.231-253, 2000.

DUFFIELD, T.F.; LEBLANC, S. J. Interpretation of serum metabolic parameters around the transition period. In: **Southwest Nutrition and Management Conference**, 24, Arizona, p.106-114, 2009.

DUFFIELD, T. F.; LISSEMORE, K.D.; MCBRIDE, B. W. et al. Impact of hyperketonemia in early lactation dairy cows on health and production. **Journal of Dairy Science**, v. 92, n.2, p.571-580, 2009.

EDMONSON, A. J.; et al. A body condition scoring chart for Holstein dairy cows. **J. Dairy Science**. v.72, p.68-81, 1989.

ENGEL, J., EASTRIDGE M.L., RIBEIRO, C.V.D.M . **Supplemental rumen-protected choline and methionine for lactating dairy cows**. The Ohio State University, Columbus, OH, 2006.

FLEISCHER, P. et al. The relationship between milk yield and the incidence of some diseases in dairy cows. **Journal of Dairy Science**. v.84, n.9, p.2025-2035, 2001.

FRIGOTTO, T.A. **Monitoramento clínico e produtivo de vacas leiteiras no período de transição**. 2010. 61p. Dissertação (Mestrado em Produção Animal) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR.

GARCIA, A. M. B. **Avaliação metabólica de vacas leiteiras submetidas a diferentes estratégias de prevenção do balanço energético negativo no pós-parto**. 2010. 66f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre-RS.

GIBBONS, G.F. Assembly and secreation of hepatic very-low-density lipoprotein. **Biochemistry Journal**. v.268, p.1-13, 1990.

GOFF, J. P. Macromineral physiology and application to the feeding of the dairy cow for prevention of milk fever and other periparturient mineral disorders. **Anim. Feed Sci. Technol.**, v.126, n.3-4, p.237-257, 2006 a.

GOFF, J. P., HORST, E R. L. Physiological changes at parturition and their relationship to metabolic disorders. **Journal of Dairy Science**, v.80, p.1260–1268, 1997.

GONZÁLEZ, F. H. D.; SILVA, S. C. **Bioquímica clínica de lipídeos**. In: Introdução à bioquímica clínica veterinária. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2006. Cap. 4, p.121 – 151.

GONZÁLEZ, F. H. D. **Uso do perfil metabólico no diagnóstico de doenças metabólico-nutricionais**. In: GONZÁLEZ, F, H. D.; BARCELOS, J. O.; OSPINA, H. et al. (Eds.) Perfil metabólico em ruminantes: seu uso em nutrição e doenças nutricionais. Porto Alegre. Gráfica da UFRGS, 2000. 106p.

GOUDA, J; MARTÍNEZ, L.P; QUEIROZ-ROCHA, G.F. Sistema de diagnóstico das doenças metabólicas no bovino. In: GONZÁLEZ, F.H.D; BORGES, J.B; CECIM, M. **Uso de provas de campo e laboratório clínico em doenças metabólicas e ruminais dos bovinos**. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2000. P.17-18.

GRUM, D. E.; DRACKLEY, J. K.; YOUNKER R. S. et al. Nutrition during the dry period and hepatic lipid metabolism of periparturient dairy cows. **J. Dairy Sci.**, v.79, n.10, p.1850-1864, 1996.

GRUMMER, R. R. Impact of changes in organic nutrient metabolism on feeding the transition dairy cow. **Journal of Dairy Science**, v. 73, n.12, p.2820-2833, 1995.

GRUMMER, R.R. Nutritional and management strategies for prevention of fatty liver in dairy cattle. **The Veterinary Journal**, v.176, p.10-20, 2008.

GRUMMER, R.R; RASTANI, R.R. Why Reevaluate Dry Period Length? **Journal of Dairy Science**, v.87, n.1, p.77-85, 2004.

GUO, J., PETERS, R. R., KOHN, R. A. Effect of a transition diet on production performance and metabolism in periparturient dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.90, p.5247–5258, 2007.

GURETZKY, N. A. J.; CARLSON, D. B.; GARRETT, J. E. et al. Lipid metabolite profiles and milk production for Holstein and Jersey cows fed rumen-protected choline during the periparturient period. **Journal of Dairy Science**, v.89, n.1, p.188–200, 2006.

HAMMON, D. S., et al. Neutrophil function and energy status in Holstein cows with uterine health disorders. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v.113, p.21–29, 2006.

HAYIRLI, A., BERTICS, S. J., GRUMMER, R. R. Effects of slow release insulin on production, liver triglyceride and metabolic profiles of Holsteins in early lactation. **Journal of Dairy Science**, v.85, p.2180–2191, 2002.

HERDT, T. H. Ruminant adaptation to negative energy balance influences on the etiology of ketosis and fatty liver. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v.16, p.215–230, 2000.

HEUER, C., et al. Postpartum body condition score and results from the first test day milk as predictors of disease, fertility, yield, and culling in commercial dairy herds. **Journal of Dairy Science**, v.85, p.2180-2191, 2002.

HUZZEY, J.M., et al. Prepartum behavior and dry matter intake identify dairy cows at risks for metritis. **Journal of Dairy Science**, v.90, p.3220-3233, 2007.

INGVARTSEN, K. L. Feeding and management related diseases in the transition cow. Physiological adaptations around calving and strategies to reduce feeding- related diseases. **Anim. Feed Sci. Technol.**, v.126, n.3-4, p.175–213, 2006.

IWERSEN, M.; FALKENBERG, U.; VOIGTSBERGER, R. et al. Evaluation of an electronic cowside test to detect subclinical ketosis in dairy cows. **J. Dairy Sci.**, v.92, n.6, p.2618-24, 2009.

KANEENE, J.B. et al. The association of serum nonesterified fatty acids and cholesterol, management and feeding practices with peripartum disease in dairy cows. **Preventive Veterinary Medicine**, v.31, p.59-72, 1997.

KANEKO, J.J., HARVEY, J.W., BRUSS, M. L. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 6th ed., Elsevier Academic Press, San Diego- California, 2008.

KATOH, N. Relevance of apolipoproteins in the development of fatty liver and fatty liver-related peripartum diseases in dairy cows. **Journal of Veterinary Medical Science**, v.64, p.293–307, 2002.

KAUPPINEN, K. Prevalence of bovine ketosis in relation to number and stage of lactation. **Acta Vet. Scand.**, v.24, n.4, p.349-361, 1983.

KEHRLI, M.E., NONNECKE, B.J., ROTH, J.A. Alterations in bovine PMN function during the periparturient period. **American Journal of Veterinary Research**, v.50, p.207-214, 1989.

LAGO, E. P. et al. Parâmetros metabólicos de vacas leiteiras durante o período de transição pós-parto. **Revista Brasileira de Ciências Veterinárias**, v.11, n.1, p.98-103, 2004.

LEBLANC, S. Monitoring metabolic health of dairy cattle in the transition period. **Journal of Reproduction and Development**, v.56, p. s29-s35, 2010.

LEBLANC, S. Monitoring programs for transition dairy cows. **XXIV World Buiatrics Congress**, Nice – França, 2006.

LEBLANC, S.J; LESLIE, K.E; DUFFIELD, T.F. Metabolic predictors of displaced abomasum in dairy cattle. **Journal of Animal Science**, v.88, p.159-170, 2005.

LEHNINGER, A.L. **Lehninger: princípios de bioquímica**. 4 ed. São Paulo: Sarvier, 2006.

LIMA, F. S., M. F. SA FILHO, L. F. GRECO, F. SUSCA, V. J. A. MAGALHAES, J. GARRETT, AND J. E. P. SANTOS. 2007. Effects of feeding rumen-protected choline (RPC) on lactation and metabolism. **Journal of Dairy Science**. 90 (Suppl. 1):174.

MACLACHLAN, N.J., CULLEN, J.M. Fígado, sistema biliar e pâncreas exócrino. In: CARLTON, W.W. **Patologia Veterinária Especial de Thomson**. 2. ed. 672p. Porto Alegre: Artmed, cap.2. p.95-131, 1998.

MANUAL MERCK DE VETERINÁRIA: **Um manual de diagnóstico, tratamento, prevenção e controle de doenças para o veterinário.** Clarence M. Fraser, editor. - 7.ed. – São Paulo: Roca, 1996. Cap 7- Distúrbios metabólicos.

MARGOLLES, E. Metabolitos sanguíneos em vacas altas produtoras durante la gestación-lactancia em las condiciones de Cuba y su relacion com transtornos del metabolismo. **Revista Cubana de Ciencia Veterinaria**, p.221-230, 1983.

MCART, J.A.A., NYDAM, D.V., OETZEL, G.R. Epidemiology of subclinical ketosis in early lactation dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v.95, p.5056-5066, 2012.

MUKHERJE, S., GOLLAN, J.L. Assessment of liver function. In: **Sherlock's diseases of the liver and biliary system** – Edited by Dooley, J.S. et al. Wiley – Blackwell – 12 th ed., 2002

MURRAY, R.K.; GRANNER, D.K.; RODWELL, V.W. **Harper: Bioquímica Ilustrada.** Rio de Janeiro: McGrawHill, 2007. 620p.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient Requeriments of Dairy Cattle.** 7.ed. Washington: National Academy Press. 2001. 380p.

NELSON, D.L.; COX, M.M. **Lehninger principles of biochemistry.** New York: Worth, 2000. 1152p.

OETZEL, G. R. Monitoring and testing dairy herds for metabolic disease. **Veterinary Clinics of North America: food animal practice**, v.20, p.651–674, 2004.

ONDARZA, M. B. Dry cow and transition cow nutrition. 2000. Disponível em: www.milkproduction.com > Acesso em: 01 abr. 2016.

OSPINA, P. A., et al. Association between the proportion of sampled transition cows with increased nonesterified fatty acids and beta-hydroxybutyrate and disease incidence, pregnancy rate, and milk production at the herd level. **Journal of Dairy Science**, v.93, p. 3595–3601, 2010a.

OSPINA, P. A., et al. Associations of elevated nonesterified fatty acids and beta-hydroxybutyrate concentrations with early lactation reproductive performance and milk production in transition dairy cattle in the northeastern united states. **Journal of Dairy Science**, v.93, p.1596–1603, 2010b.

OSPINA P. A., et al. Association between the proportion of sampled transition cows with increased nonesterified fatty acids and β -hydroxybutyrate and disease incidence, pregnancy rate, and milk production at the herd level. **Journal of Dairy Science**, v.93, p.3595–3601, 2010c.

OVERTON, T. R.; NYDAM, D. V. Como identificar oportunidades no manejo de vacas periparto. In: CURSO DE NOVOS ENFOQUES NA PRODUÇÃO E REPRODUÇÃO DE BOVINOS, 13., 2009, Uberlândia. **Anais...** Botucatu: Universidade Estadual Paulista, 2009, p.285-290. CD-ROM.

OVERTON, T.R.; WALDRON, M.R. Nutritional management of transition dairy cows: PAYNE, J. M.; PAYNE, S. **The metabolic profile test**. Oxford: Oxford University Press, 1987.

PAYNE, J.M., et al. The use of metabolic test in dairy herds. **Veterinary Record**, v.87, 1970. p. 150-158.

PIEPENBRINK, M. S., T. R. OVERTON. **Liver metabolism and production of cows fed increasing amounths of rumen-protected choline during the periparturient period**. Journal of Dairy Sciense. n.86, p.1722-1733, 2003.

PINOTTI, L et al. Comparative mammalian choline metabolism with emphasis on role in ruminants, especially the high yielding dairy cow. **Nutr. Res. Rev.** 15:315-331, 2002.

PIRES, J.A.A., and GRUMMER, R.R.. **Micronutrients and their impact on high performing dairy cows – A focus on niacin and choline.** In Proc. Southwest Nutrition and Management Conference, Department of Animal Sciences, University of Arizona, 2009.

POGLIANI, F. C.; BIRGEL JUNIOR E. Valores de referência do lipidograma de bovinos da raça Holandesa, criados no Estado de São Paulo. **Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.**, v.44, n.5, p.373-383, 2007.

PONCHEKI, J.K.; CANHA, M, L.S.; VIECHINIESKI, S.L.; ALMEIDA, R. Análise de peso corporal por dia de vacas leiteiras no início da lactação e associações com o desempenho produtivo e reprodutivo. **R. Bras.Zootec.** , Viçosa, v. 44, n. 5, p. 187-192, 2015.

PONCHEKI, K. J. **Avaliação do manejo de vacas no período de transição utilizando as informações do primeiro controle leiteiro após o parto.** 2015. 90p. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR.

QUEIROZ-ROCHA, G.F., et al. Reference limits for biochemical and hematological analytes of dairy cows one week before and one week after parturition. **Canadian Veterinarian Journal**, v.50, p.383-388, 2009.

RADOSTITS, O. M.; GAY, C. C.; HINCHCLIFF, K. W. et al. **Veterinary medicine: a textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats.** 10. ed., Philadelphia: Elsevier, 2007. 2156p.

RAMIRES, H. C. **Parâmetros sanguíneos em vacas leiteiras no período de transição e seu impacto no desempenho produtivo.** 2013. 104p. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR.

RASTANI, R.R., et al. Reducing dry period length to simplify feeding transition cows: milk production, energy balance, and metabolic profiles. **Journal of Dairy Science**, v. 88, p.1004-1014, 2005.

RIBEIRO, E.S., et al. Effect of postpartum diseases on reproduction of grazing dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.94 (e-suppl. 1), p.63, 2011.

ROCHE, J.R., et al. Invited review: body condition score and its association with dairy cow productivity, health and welfare. **Journal of Dairy Science**, v.92, p.5769-5801, 2009.

RUKKWAMSUK, T., WENSING, T., GEELLEN, M. J. H. Effect of overfeeding during the dry period on regulation of adipose tissue metabolism in dairy cows during the periparturient period. **Journal of Dairy Science**, v.81, p.2904–2911, 1998

SANTOS, J. **Feeding Rumen-Protected Choline to Transition Dairy Cows**. University of Florida IFAS Publication. Mai, 2009.

SCHWALM, J. W.; SCHULTZ, L. H. Relationship of insulin concentration to blood metabolites in the dairy cow. **Journal of Dairy Science**, v.59, n.2, p.255-261, 1976.

SIMÕES J., MADUREIRA, M., DIAS DA SILVA, A. Prevenção das patologias metabólicas de alta produção. **Veterinária Técnica**, v.11, p.20-30, 2006.

SOUZA, R.M. **Avaliação da função hepática e do lipidograma no período puerperal e pós-puterperal e suas inter-relações com os distúrbios reprodutivos de fêmeas bovinas da raça Holandesa, criadas no Estado de São Paulo**. 196fs. Dissertação (Mestrado) – Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, 2005.

STENGÄRDE, L. **Displaced abomasum and ketosis in dairy cows blood profiles and risk factors**. 2010. 76f. Thesis (Doctorate in Veterinary Medicine) - Swedish University of Agricultural Sciences Uppsala, Suécia.

STENGÄRDE, L.; TRÄVÉN, M.; EMANUELSON, U. et al. Metabolic profiles in five high-producing Swedish dairy herds with a history of abomasal displacement and ketosis. **Acta Vet. Scand.**, v.50, n.31, p.1-11, 2008.

STOCKDALE, C. R. Body condition at calving and the performance of dairy cows in early lactation under Australian conditions: A review. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, v.41, p.823–839, 2001.

STRANG, B. D., S. J. BERTICS, R. R. GRUMMER, and L. E. ARMENTANO. 1998. Effect of long-chain fatty acids on triglyceride accumulation, gluconeogenesis, and ureagenesis in bovine hepatocytes. **Journal of Dairy Science**, 81:728.

SUTHAR, V.S., et al. Prevalence of subclinical ketosis and relationships with postpartum diseases in European dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.96, p.2925–2938, 2013.

THRALL, M. A.; WEISER, G.; ALLISON, R. W. et al. **Veterinary hematology and clinical chemistry**. 2. ed. Ames: Wiley-Blackwell, 2012. 776p.

TONI, F., et al. Early lactation ratio of fat and protein percentage in milk is associated with health, milk production, and survival. **Journal of Dairy Science**, v. 94, p.1772-1783, 2011.

VAN DEN TOP, A. M.; WENSING, T.; BEYNEN, A. C. Influence of replacement of dietary hay by an isoenergetic amount of a concentrate rich in medium chain triacylglycerols on fat metabolism in goats. **J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.**, v.73, n.1-5, p.104–112, 1995a.

VAN DEN TOP, A. M.; GEELEN M. J. H.; WENSING, T. et al. Higher postpartum hepatic triacylglycerol concentrations in dairy cows with free rather than restricted access to feed during the dry period are associated with lower activities of hepatic glycerolphosphate acyl- transferase. **J. Nutr.**, v.126, n.1, p.76–85, 1996.

VAN DORLAND, H. A.; RICHTER, S.; MOREL, I. et al. Variation in hepatic regulation of metabolism during the dry period and in early lactation in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.92, n.5, p.1924–1940, 2009.

VAN DORP, R.T.E. et al. An epidemiologic study of disease in 32 registered holstein dairy herds in British Columbia. **Canadian Journal of Veterinary Research**, v.63, p.185-192, 1999.

VAN KNEGSEL, A. T. M.; VAN DEN BRAND, H.; GRAAT, E. A. M. et al. Dietary energy source in dairy cows in early lactation: Metabolites and metabolic hormones. **Journal of Dairy Science**, v. 90, n.3, p.1477–1485, 2007.

VANCE, D.E.; VANCE, J. Biochemistry of lipids, lipoproteins and membranes. New York: Elsevier, 2002 in KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 6. ed. San Diego: Elsevier Inc., 2008.

VEIGA, I.R.F.M. **Efeito de dietas aniônicas adicionadas de cromo e metionina no período de transição de vacas leiteiras sobre perfil metabólico e hormonal e produção de leite**. 124fs. Tese (doutorado). Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2013 (dados ainda não publicados).

ZEOULA, L. M.; GERON, L. J. V. Vitaminas. In: BERCHIELLI, T. T.; et al. (Eds). **Nutrição de Ruminantes**. Jaboticabal: FUNEP, 2006. 583p.

WALSH, R.B, et al. Prevalence and risk factors for postpartum anovulatory condition in dairy cows. **Journal of Dairy Science**; v.90, p.315–324, 2007.

WILDMAN E.E., et al. A dairy cow body condition scoring system and its relationship to standard production characteristics. **Journal of Dairy Science**, v.65, p.495-501, 1982.

WILTBANK, M, et al. Changes in reproductive physiology of lactating dairy cows due to elevated steroid metabolism. **Theriogenology**, v.65, p.17-29, 2006.

WITTWER, F. **Diagnóstico dos desequilíbrios metabólicos de energia em rebanhos bovinos**. In: GONZÁLEZ, F. H. D. BARCELLOS, J.; OSPINA PATINO, H.; RIBEIRO, L. A. (Eds). Perfil metabólico em ruminantes: seu uso em nutrição e doenças nutricionais. Porto Alegre, Brasil. Gráfica da UFRGS, 2000a. 106p.

WITTWER, F. **Marcadores bioquímicos no controle de problemas metabólicos nutricionais em gado de leite**. In: GONZÁLEZ, F. H. D.; BARCELLOS, J.; OSPINA P. H.; RIBEIRO, L. A. (Eds). Perfil metabólico em ruminantes: seu uso em nutrição e doenças nutricionais. Porto Alegre, Brasil. Gráfica da UFRGS. 2000b. 106p.

CAPÍTULO II – EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DA COLINA PROTEGIDA RUMINALMENTE EM VACAS LEITEIRAS NO PERÍODO DE TRANSIÇÃO

RESUMO

Os efeitos da colina protegida ruminalmente sobre beta-hidroxibutirato (BHBA), ácidos graxos não esterificados (AGNE), colesterol total, triglicerídeos, HDL, LDL e VLDL, Cálcio, produção de leite, relação gordura:proteína do leite e desempenho reprodutivo foram avaliados durante o período de transição de vacas leiteiras. Em uma fazenda comercial localizada no município de Castro, no Paraná, 132 vacas da raça Holandesa (104 multíparas e 28 primíparas) foram bloqueadas de acordo com sua ordem de parição, número de dias pré-parto e o escore de condição corporal (ECC). O período de suplementação foi de 18 dias pré e 21 dias pós-parto. As vacas do grupo tratamento foram suplementadas com 100 g/d Vicomb® (Jefo, Quebec, Canadá), garantindo o aporte de 20,9 g de colina protegida ruminalmente, enquanto que vacas do grupo controle foram suplementadas com a mesma quantidade de milho grão moído. Cinco amostras de sangue foram coletadas de cada animal (-14 e -7 dias antes do parto, ao parto, +7 e +14 dias após o parto). Além disso, quatro amostras foram coletadas (+3, +5, +7 e +10 dias após o parto) para análise de BHBA com auxílio de um glicosímetro portátil *Optium Xceed*®. As amostras de leite para estimar a relação gordura:proteína foram coletadas nos dias +7, +14 e +21 dias após o parto. Os dados foram analisados utilizando o procedimento MIXED do SAS, com um modelo contendo os efeitos de bloco, tratamento, tempo e interação tratamento-tempo como efeitos fixos e vaca aninhada em tratamento como efeito aleatório. A incidência de hipercetonemia (BHBA $\geq 1,2$ mmol/L) foi de 25,0% (16/64) para o grupo tratamento e 30,0% (19/63) para o grupo controle. O peso corporal e o ECC não diferiram ($P > 0,05$) entre vacas controle e tratadas durante as três observações (21 dias antes do parto, ao parto e 21 dias após o parto) realizadas ao longo do experimento. Também não foram detectadas diferenças ($P > 0,05$) nas concentrações de metabólitos séricos entre vacas tratamento e controle. Concentrações de AGNE atingiram o pico ($P < 0,01$) no dia do parto; $0,82 \pm 0,04$ mmol/L, enquanto que o BHBA atingiu o pico ($P < 0,01$) 7 dias após o parto; $0,78 \pm 0,05$ mmol/L. A menor concentração de colesterol foi observada no dia do parto; $73,78 \pm 1,53$ mg/dL. Não foram observadas diferenças ($P > 0,05$) na relação gordura:proteína no leite entre vacas tratamento e controle nas primeiras três semanas após o parto; 1,29 vs 1,31, respectivamente. A produção de leite acumulada nos primeiros 100 dias de lactação não apresentou diferença significativa ($P > 0,05$) entre os animais do grupo tratamento e controle, sendo as médias $40,66 \pm 0,89$ kg/dia vs. $40,83 \pm 0,90$ kg/dia, respectivamente. Das 106 amostras de colostro avaliadas após o parto, através do refratômetro óptico de brix, os valores obtidos não foram estatisticamente distintos ($P > 0,05$), sendo $19,7\% \pm 0,72$ para o grupo tratamento e $20,0\% \pm 0,69$ para o grupo controle. Entre as variáveis reprodutivas analisadas, para três delas observou-se uma tendência de melhoria do desempenho reprodutivo em vacas tratadas com CPR, apresentando DEL a 1ª IA (75,1 vs. 82,8 dias; $P = 0,10$), menor DEL a concepção (210,8 vs. 236,5 dias; $P = 0,12$) e menor intervalo entre IA (37,5 vs. 43,4 dias; $P = 0,09$). Dos 128 animais amostrados para Ca total no dia do parto, 14 apresentaram hipocalcemia clínica (Ca < 5 mg/dL), 94 com hipocalcemia subclínica (Ca entre 5-8 mg/dL) e apenas 20 animais foram classificados como normocalcêmicos (Ca > 8 mg/dL). Nas condições particulares deste rebanho com moderada incidência de hipercetonemia e com a suplementação obrigatória de drench no pós-parto imediato, não foram detectados benefícios com a suplementação de colina protegida ruminalmente.

Palavras-chave: Colesterol, Cetose, Lipoproteínas.

CHAPTER II – SUPPLEMENTATION EFFECTS OF RUMEN-PROTECTED CHOLINE IN DAIRY COWS DURING THE TRANSITION PERIOD

ABSTRACT

The effects of rumen-protected choline (RPC) on β -hydroxybutyrate (BHBA), nonesterified fatty acids (NEFA), total cholesterol, triglycerides, HDL, LDL and VLDL and milk fat protein ratio (FPR) were evaluated in periparturient dairy cows. In a commercial farm in Southern Brazil, 132 Holstein cows (104 multiparous and 28 primiparous) were blocked by parity, expected day of calving and body condition score (BCS). The supplementation period was 18 d pre and 21 d postpartum. Cows in the treatment group were individually top-dressed with 100 g/d Vicomb® (Jefo, Quebec, Canada), to provide 20.9 g of rumen-protected choline, while the control cows (CON) were supplemented with the same amount of corn meal. Five blood samples were collected from each animal (14 d and 7 d before calving, at calving, 7 d and 14 d after calving). Additionally four samples were collected (3, 5, 7 and 10 d after calving) for BHBA analysis using a Precision Xtra meter. Milk samples to estimate FPR were collected on days 7, 14 and 21 after parturition. Data was analyzed using MIXED procedure of SAS with a model containing the effects of block, treatment, time, and treatment*time interaction as fixed effects and cow within treatment as a random effect. The incidence of hyperketonemia (BHBA concentration ≥ 1.2 mmol/L) was 25.0% (16/64) for RPB and 30.0% (19/63) for CON. Body weight and BCS did not differ ($P>0.05$) between RPC and CON cows in all three observations (21 d before calving, at calving, and 21 d after calving). No differences on serum metabolites between RPC and CON cows were detected ($P>0.05$). NEFA concentrations peaked ($P<0.01$) at calving; 0.82 ± 0.04 mmol/L, whereas BHBA peaked ($P<0.01$) at 7 d after calving; 0.78 ± 0.05 mmol/L. The lowest cholesterol concentration was at calving; 73.78 ± 1.53 mg/dL. Finally no milk FPR differences ($P>0.05$) were observed between RPC and CON cows in the first 3 weeks after calving; 1.29 vs. 1.31, respectively. Milk production in the first 100 days of lactation showed no significant difference ($P>0.05$) between the animals of the treatment group and controls, and the averages were 40.66 ± 0.89 kg/d vs. 40.83 ± 0.90 kg/d, respectively. From the 106 colostrum samples evaluated by optical refractometer Brix, there were no differences ($P>0.05$) between treatment and control cows; $19.7 \pm 0.72\%$ and $20.0 \pm 0.69\%$, respectively. Among the reproductive variables, for three of them there was a trend towards improvement of the reproductive performance in cows treated with CPR, with the DEL 1st IA (75.1 vs. 82.8 days ; $P = 0.10$), lower the DEL design (vs. 210.8 236.5 days ; $P = 0.12$) and lower gap between IA (37.5 vs. 43.4 days , $P = 0.09$). Among the 128 animals analyzed for total Ca at calving, 14 had clinical hypocalcemia ($\text{Ca} < 5$ mg/dL), 94 subclinical hypocalcemia (between 5 and 8 mg/dL) and only 20 had shown normal Ca levels ($\text{Ca} > 8$ mg/dL). In the particular conditions of this on-farm trial with low incidence of hyperketonemia and drench supplementation in all cows, no benefits on RPC supplementation were detected.

Key-words: Cholesterol, Ketosis, Lipoproteinas.

1. INTRODUÇÃO

O período de transição é um momento de grande desafio para vacas de aptidão leiteira (DRACKLEY et al. 2005). A maioria dos problemas metabólicos ocorre nesta fase e podem prejudicar toda a expectativa de produção durante a lactação (DANN et al., 1999; DRACKLEY, 1999), resultando em impacto econômico significativo para fazendas de produção leiteira (BURHANS et al., 2003).

As alterações que ocorrem no organismo animal durante o período de transição são adaptativas e tem o intuito de preparar a vaca para o final da gestação e o início da lactação (WITTWER, 2000 b; ROCHE, 2009). O metabolismo energético é influenciado pelas alterações endócrinas, pela diminuição no consumo de alimentos e maior demanda por nutrientes, o que induz a mobilização de tecido adiposo (GRUM et al., 1996; DRACKLEY, 1999). O déficit energético entre a energia ingerida através dos alimentos e a energia utilizada pelo organismo para manutenção e produção caracteriza o balanço energético negativo (BEN) (BAUMGARD et al., 2006).

O grau do BEN pode ser identificado pelo aumento nas concentrações circulantes de AGNE e de BHBA, uma vez que a concentração de AGNE reflete a magnitude da mobilização da gordura corporal a partir das reservas e o BHBA reflete a oxidação incompleta da gordura no fígado (LEBLANC, 2010).

Quando esta mobilização de reservas ocorre de forma controlada e por curto período de tempo, o animal está bem adaptado ao BEN (JORRISTMA et al., 2003). Entretanto, quando há mobilização excessiva do tecido adiposo, existe um aumento na quantidade de AGNE liberados e parte dos corpos cetônicos produzidos não são metabolizados, causando um acúmulo desses metabólitos, culminando num quadro de cetose clínica ou subclínica (DUFFIELD; BAGG, 2002).

A colina é conhecida por seus efeitos positivos nessas situações de desbalanço energético, sendo necessária para a síntese de VLDL, lipoproteína responsável pela mobilização dos ácidos graxos para fora do fígado, desempenhando papel fundamental no metabolismo da gordura. Desta forma a suplementação de colina protegida torna-se uma ferramenta prática para o produtor como parte de uma estratégia nutricional a fim de diminuir a cetose subclínica, além disso, a implementação de programas de monitoramento de saúde do rebanho visa detectar os problemas precocemente a fim de imediata intervenção ou acompanhamento da situação (OETZEL & MCGUIRK, 2007; LEBLANC, 2010; OETZEL, 2010).

A análise do perfil metabólico permite avaliar a condição energética, proteica e mineral dos animais (WITTWER, 2000 a, 2000 b) possibilitando assim analisar

mudanças e realizar ajustes que possam ser imprescindíveis para minimizar a prevalência e incidência de enfermidades durante o período de transição (LEBLANC et al., 2006; DUFFIELD & LEBLANC, 2009; GOFF, 2009).

Objetivou-se com este estudo avaliar o perfil metabólico de vacas da raça Holandesa durante o período de transição, a fim de identificar os efeitos da suplementação de colina protegida ruminalmente através das mensurações das concentrações séricas de AGNE, BHBA por duas metodologias (colorimétrico enzimático e tiras teste a campo), colesterol total, triglicerídeos, HDL, LDL, VLDL nos períodos pré e pós- parto; cálcio total no dia do parto, produção e composição do leite (gordura, proteína, lactose, sólidos totais, NUL e CCS), peso corporal e ECC, além dos parâmetros reprodutivos.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Todos os procedimentos metodológicos envolvendo os animais foram aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais do Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná (Número do Protocolo 046/2015 pela CEUA).

Este estudo foi conduzido em um rebanho comercial localizado no município de Castro, Paraná, sendo realizado durante os meses de junho a dezembro de 2014, com a inclusão e monitoramento de 132 vacas da raça Holandesa; 28 primíparas e 104 multíparas.

2.1 Estudo da população

Somente foram incluídas no presente estudo vacas e novilhas no período de transição, entre -21 dias antes do parto e +21 dias após o parto. As condições e rotina de manejo adotadas pela propriedade foram mantidas durante todo o período de realização do experimento.

O produto comercial fornecido como fonte de colina foi o Vicomb® (Jefo, Quebec, Canadá), que possui em sua composição: 209 mg/kg de cloreto de colina protegido ruminalmente, 150 mg/kg de ácido fólico, 250 mg/kg de riboflavina, 132.000 UI/kg de vitamina A, 36.000 UI/kg de vitamina D e 1.000 UI/kg de vitamina E. Os nutrientes foram incorporados em uma matriz de triglicerídeos, com tamanho e densidade projetados especificamente afim de garantir uma rápida passagem no rúmen e entrega ideal no intestino. Depois de atingir o intestino, a matriz libera os nutrientes para a absorção.

A suplementação foi de 100g/vaca/dia do produto comercial o que garantiu o aporte de 20,9 g diárias de colina protegida ruminalmente.

Os animais participantes do experimento tinham idade média ao parto de $47,7 \pm 18,9$ meses, com idades variando entre 21 a 106 meses. A ordem de lactação média dos animais era de $2,5 \pm 1,3$ lactações (com animais de 1ª a 6ª lactação).

2.2 Coleta e análise de alimentos

Animais dos grupos CPR e controle receberam seus tratamentos *top-dressed*, individualmente e uma vez ao dia, ao longo de 18 dias pré-parto e 21 dias pós-parto. O grupo controle recebia 200g/vaca/dia de milho grão moído e as vacas do grupo tratamento, 100g/vaca/dia de Vicomb® + 100g/vaca/dia de milho grão moído. As dietas fornecidas no pré e pós-parto foram avaliadas de acordo com as exigências

nutricionais para vacas no pré-parto e início da lactação, conforme dados expressos na Tabela 1.

TABELA 1 – Composição das dietas experimentais no pré- e pós-parto.

Ingredientes	Dieta Pré-parto (%MS)	Dieta Pós-parto (%MS)
Silagem de milho ¹	55,47	48,12
Silagem pré-secada de azevém	17,82	21,38
Feno de azevém/Palha de trigo ²	15,26	-
Concentrado B3B pré-parto ³	8,12	-
Gordura protegida	0,87	-
Sal Connan Leite Lactação 60P ⁴	2,46	-
Milho grão moído	-	8,87
Concentrado B3B 18% especial ⁵	-	8,96
Farelo de soja	-	8,97
Bicarbonato de sódio	-	1,01
Sal Connan Lactação Biotina ⁶	-	2,69

Fonte: Dados do autor.

¹Silagem de milho: 30,49%MS; 7,50%PB; 46,54%FDN; 20,74%FDA; 3,06%Lignina; 69,0%NDT.

²Feno de Azevém: 83,90%MS; 8,16%PB; 77,45%FDN; 44,11%FDA. ³Concentrado B3B pré-parto: Ca: 3,8 (g); P: 1,0(g); Mg:1,3(g); K: 0,8 (g); S: 1,3(g); Na: 0,1 (g); Cl: 3,0 (g); Co: 2,3 (mg/Kg); Cu: 61 (mg/Kg); Mn: 220 (mg/Kg); Zn: 272 (mg/Kg); Se: 1,31 (mg/Kg); I:2,3 (g); Vit A: 72.000 (UI/Kg); Vit D: 16.000 (UI/Kg); Vit E: 373 (UI/Kg). ⁴Sal Connan Leite Lactação 60P: Ca (mín/máx): 110-135 (g); P:60 (g); Na:98 (g); Mg: 20 (g); S: 30(g); Zn: 3500 (mg/Kg); Cu: 1020 (mg/Kg); Mn: 600 (mg/Kg); Co: 65 (mg/Kg); I: 90 (mg/Kg); Se: 36 (mg/Kg); Vit A: 150.000 (UI/Kg); Vit D: 45.000 (UI/Kg); Vit E: 1000 (UI/Kg). ⁵Concentrado B3B 18% especial: Ca: 1,3 (g); P: 0,6 (g); Mg: 0,6 (g); K: 0,9 (g); S: 0,3(g); Na: 0,5 (g); Cl: 0,4 (g); Co: 1,3 (mg/Kg); Cu: 28 (mg/Kg); Mn: 78 (mg/Kg); Zn: 163 (mg/Kg); Se: 0,77 (mg/Kg); I:3,6 (g); Vit A: 9.000 (UI/Kg); Vit D: 2.200 (UI/Kg); Vit E: 62 (UI/Kg). ⁶Sal Connan Lactação Biotina: Ca (mín/máx): 200-220 (g); P:42 (g); Mg: 30 (g); S: 34(mg/Kg); Zn: 2500 (mg/Kg); Cu: 800 (mg/Kg); Mn: 600 (mg/Kg); Co: 60 (mg/Kg); I: 60 (mg/Kg).

A diferença catiônica-aniônica da dieta (DCAD) foi de +1,2 mEq/100g de MS para a dieta pré-parto e +28,0 mEq/100g para a dieta pós-parto, conforme expresso na Tabela 2.

TABELA 2 – Níveis nutricionais das dietas experimentais no pré- e pós-parto.

Nutrientes	Dieta Pré-parto	Dieta Pós-parto
MS (%) ¹	40,2	42,5
ELIac (Mcal/Kg) ²	1,50	1,59
NDT (%) ³	64,1	67,7
PB (%) ⁴	10,3	14,4
FDN (%) ⁵	46,7	38,2
FDA (%) ⁶	23,5	18,9
CNF (%) ⁷	31,5	36,1
EE (%) ⁸	3,9	3,4
Ca (%) ⁹	1,0	0,9
P (%) ¹⁰	0,4	0,4
DCAD (mEq/100g MS) ¹¹	+1,2	+28,0

Fonte: Dados do autor.

¹ Matéria seca; ²Energia líquida de lactação; ³Nutrientes digestíveis totais; ⁴ Proteína bruta; ⁵ Fibra em detergente neutro; ⁶Fibra em detergente ácido; ⁷Carboidratos não fibrosos; ⁸Extrato etéreo; ⁹Cálcio; ¹⁰Fósforo; ¹¹Diferença catiônica-aniônica da dieta.

A diferença catiônica-aniônica da dieta (DCAD) é um método usado para calcular o status ácido-básico da dieta baseado nos níveis de ânions e cátions específicos contidos na dieta (BEAUCHEMIN et al., 2003). Neste trabalho a DCAD foi calculada usando a seguinte fórmula sugerida por Block (1994): $DCAD (mEq/100g) = [(\%Na/0,023) + (\%K/0,039)] - [(\%Cl/0,0355) + (\%S/0,016)]$ onde o cálculo se dá simplesmente pela divisão entre a porcentagem do elemento mineral pelo peso em gramas de seu miliequivalente (peso atômico/valência), onde somam-se as cargas positivas (Na e K) e delas são subtraídas as negativas (Cl e S).

A composição mineral da dieta pré-parto em porcentagem da MS era 0,27% Na, 1,49% K, 1,02% Cl e 0,32% S e para dietas pré-parto era 0,53% Na, 1,41% K, 0,67% Cl e 0,20% S, e a partir destes valores, estimou-se a DCAD de ambas as dietas.

A comparação entre as médias das análises bromatológicas realizadas quinzenalmente, bem como os valores estimados pelo NRC (2001), são expressos na Tabela 3, onde é possível observar que os valores se encontram muito próximos, o que indica uma similaridade entre as dietas formuladas (estimativas do NRC 2001) e as dietas ofertadas (média das análises bromatológicas).

TABELA 3 – Comparação entre as médias das análises bromatológicas quinzenais e os valores estimados pelo NRC (2001) das dietas experimentais no pré- e pós-parto.

Nutrientes	Dieta Pré-parto		Dieta Pós-parto	
	Média análises bromatológicas	Estimativa NRC (2001)	Média análises bromatológicas	Estimativa NRC (2001)
MS (%) ¹	39,77	40,2	42,19	42,5
PB (%) ²	11,76	10,3	14,99	14,4
FDN (%) ³	48,51	46,7	42,03	38,2
FDA (%) ⁴	26,79	23,5	22,46	18,9

Fonte: Dados do autor, adaptado do NRC (2001).

¹ Matéria seca; ² Proteína bruta; ³ Fibra em detergente neutro; ⁴ Fibra em detergente neutro.

Durante o período experimental amostras da dieta total misturada (TMR) do lote pré-parto e pós-parto foram coletadas quinzenalmente, diretamente do cocho, enquanto que amostras de alimentos volumosos (silagem de milho e feno ou palha) foram amostradas duas vezes, uma no início e outra ao final do período experimental. As amostras eram colocadas em sacos plásticos específicos, identificadas e posteriormente congeladas até a realização da análise bromatológica, no Laboratório de Nutrição Animal, Departamento de Zootecnia da Universidade Federal do Paraná da UFPR.

Na análise das amostras de TMR foram determinados teores de matéria seca (MS), proteína bruta (PB), fibra em detergente neutro (FDN) e fibra em detergente ácido (FDA). A MS total foi obtida através da secagem em estufa a 105°C, após a realização da pré-secagem (55°C) até peso constante, sendo as amostras secas e moídas em moinhos do tipo Willey, em peneiras com crivos de 1 mm. A PB foi obtida pelo método de Dumas, que determina o N total através da combustão da amostra. As frações fibrosas foram determinadas pelo método sequencial de *Filter Bag Technique* da Ankom, que determina primeiro a FDN e com o peso do resíduo determina a FDA, pelo método descrito por VAN SOEST et al. (1991).

Logo após o parto as vacas recebiam, através de sonda oroesofágica, 35 litros de solução eletrolítica (Drench) contendo 100g de cloreto de potássio, 200g de sulfato de magnésio, 100g de cloreto de cálcio e 300 mL de propilenoglicol.

2.3 Escore de condição corporal (ECC) e peso corporal

Todos os animais amostrados tiveram seus pesos corporais estimados através da fita de perímetro torácico e logo após a pesagem era realizada a avaliação do escore de condição corporal (ECC) no qual eram avaliados por inspeção visual da

pelve e inserção da cauda, costelas e lombo, seguindo a escala de 1 a 5 pontos proposta por Wildman et al. (1982) e Edmonson et al. (1989), com intervalos de 0,25, sendo que para esse estudo foi considerado como escore ideal o valor de até 3,50.

A avaliação foi feita por dois avaliadores independentes, onde o escore médio de cada animal foi estimado, durante a entrada no experimento, momento do parto e saída do experimento.

2.4 Coleta de sangue e análises bioquímicas dos parâmetros sanguíneos

Amostras contendo 10 mL de sangue foram coletadas no pré e pós-parto, para a determinação da concentração dos oito parâmetros (BHBA, AGNE, colesterol, HDL, LDL, VLDL, triglicerídeos), sendo realizadas cinco vezes durante o período experimental: nos dias -14, -7 dias antes do parto, ao parto, e +7, +14 dias após o parto, e amostras de sangue do grupo pós-parto (ao parto) para análise de cálcio, mediante punção venosa coccígea, em tubos sem anticoagulante (*vacutainer*) de 9 mL.

O processamento das amostras foi realizado imediatamente após a coleta e o soro separado por centrifugação (3000 rpm por 10 minutos). O soro foi retirado com o auxílio de pipeta Pasteur e acondicionado em microtubos plástico (*ependorf*) de 1,5 mL e devidamente identificadas e congeladas a -20°C até posterior análise no Laboratório de Patologia Clínica Veterinária, Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Federal do Paraná (UFPR). Somente foram analisadas as amostras não hemolisadas e antes de cada análise bioquímica, uma amostra controle era feita para determinar o intervalo de valores dos analitos. Todas as análises bioquímicas foram realizadas em analisador bioquímico automático (modelo BS-200, Mindray, Shenzhen, China).

Os teores de beta-hidroxibutirato (BHBA) e ácidos graxos não esterificados (AGNE) foram quantificados por metodologia enzimática colorimétrica, utilizando-se kits reagentes comerciais da marca Randox® (Kit Ranbut D-3 hidroxibutirato RB 1007; Kit NEFA FA115), onde os resultados foram expressos em mmol/L.

Além da coleta de sangue em tubos para análise laboratorial, também foi coletado uma gota de sangue para análise da concentração sanguínea de β -cetonas através de tiras-teste (*Blood β -Ketones Test Strips*) no aparelho Optium Xceed, da marca Abbott Laboratories (Abbott Park, IL). Esse aparelho mede a concentração de cetonas no sangue aproximadamente em 10 segundos após o início da análise permitindo ao produtor uma rápida resposta em relação à prevalência de acetonemia no seu rebanho.

Para os teores de BHBA foram utilizados como referência as recomendações de OETZEL (2004) que criou classes no período pós-parto para avaliar a distribuição das vacas leiteiras em relação à cetose. As classes foram divididas em três categorias: 1) animais com valores menores que 1,2 mmol/L, eram considerados sadios; 2) valores entre 1,2 a 2,9 mmol/L, animais com cetose subclínica; e 3) valores acima de 2,9 mmol/L, animais com cetose clínica.

O teor de colesterol total foi quantificado por metodologia enzimática colorimétrica após a hidrólise e oxidação enzimática, onde foi utilizado o reagente da Kovalent® (Colesterol CHOD-PAP). As concentrações de colesterol-LDL e colesterol-VLDL foram determinadas indiretamente por meio de fórmulas, onde: VLDL colesterol (mg/dL) = (concentração de triglicérides/5) e LDL colesterol (mg/dL) = Colesterol Total - (HDL Colesterol + VLDL Colesterol) (FRIEDEWALD et al., 1972).

O teor de triglicerídeos foi quantificado por metodologia enzimática colorimétrica usando glicerol-3-fosfato-oxidase, após rompimento enzimático com lipoproteína lípase, onde foi utilizado o reagente da Kovalent® (Triglicerídeo GPO-PAP). Para o teor de HDL (lipoproteína de alta densidade), foi usado o kit reagente pronto para uso da Kovalent® (HDL-C-IMUNO), sendo este um método homogêneo, sem etapas de centrifugação. Complexos antígenos-anticorpo são formados com as lipoproteínas: LDL, VLDL e quilomicrons de maneira que somente o HDL-C é determinado seletivamente através de uma medida enzimática, sendo os resultados expressos em mg/dL.

O teor de cálcio total foi quantificado por metodologia colorimétrica, onde o princípio do método é o Arsenazo III quimicamente estável e possui alta afinidade pelo cálcio em uma faixa de pH neutro. A concentração de cálcio é proporcional a absorvância do complexo colorido azul Arsenazo III - cálcio, foi utilizado o kit reagente pronto para uso da Dialab® (Cálcio, Arsenazo), sendo os resultados expressos em mg/dL.

2.5 Produção e composição do leite

A fazenda possui sala de ordenha automatizada, onde a produção individual de cada vaca em cada ordenha era automaticamente mensurada e enviada ao computador de gerenciamento do rebanho usando o sistema israelense Afimilk®, sendo possível determinar a produção de leite acumulada nos primeiros 100 dias de lactação.

A composição do leite foi mensurada semanalmente nas três primeiras semanas de lactação de cada vaca recém-parida, onde cada amostra foi coletada com

subamostras de duas ordenhas em sequência, refletindo a composição do leite produzido em 24 horas, sendo acondicionadas em frascos plásticos, com capacidade de 60 mL, com conservante bronopol, identificadas e encaminhadas ao Laboratório Centralizado da Associação Paranaense dos Criadores de Bovinos da Raça Holandesa (APCBRH), em Curitiba - PR.

No laboratório as mesmas foram analisadas para gordura, proteína, lactose, sólidos totais e nitrogênio ureico no leite (NUL), através do equipamento Bentley 2000 (Bentley Instruments®), que emprega a metodologia de absorção infravermelha. Já para a contagem de células somáticas (CCS), as amostras foram analisadas no equipamento Somacount 300 (Bentley Instruments®), através da metodologia de citometria de fluxo, que consiste na medição de características celulares, quando estas se encontram suspensas em meio fluido.

2.6 Colostro

Amostras de colostro foram coletadas de vacas leiteiras recém-paridas, a fim de medir sua qualidade, através do refratômetro de brix. A porcentagem de brix é uma medida da concentração de sacarose em líquidos como suco de frutas, melaço e vinho. Quando utilizado em líquidos que não contém sacarose, há uma alta correlação entre a porcentagem de brix e o teor de sólidos totais do líquido. A porcentagem de brix pode ser correlacionada com a concentração de IgG do colostro e o valor limite que indica que o colostro é de alta qualidade (> 50 mg de Ig/mL) é 21% de brix.

2.7 Análise estatística

O delineamento utilizado neste experimento foi de blocos inteiramente casualizados, com amostras repetidas no tempo. De acordo com a entrada das vacas no lote pré-parto, os animais eram blocados seguindo os critérios de ordem de parição, data prevista para o parto e escore de condição corporal (ECC). Dentro de cada bloco os animais foram alocados aleatoriamente a um tratamento; com ou sem suplementação de colina protegida ruminalmente.

Os dados obtidos foram analisados através do programa computacional Statistical Analysis System (SAS, v.9.4, Institute Inc., Cary, NC), sendo anteriormente verificada a normalidade das variáveis dependentes pelo teste de Shapiro-Wilk (PROC UNIVARIATE). A estatística descritiva foi gerada com o procedimento PROC FREQ do SAS bem como as médias pelo PROC MEANS do SAS (v.9.4, Institute Inc., Cary, NC). Correlações simples de Pearson foram estimadas através do procedimento PROC CORR do SAS (v.9.4, Institute Inc., Cary,

NC), para estimar as correlações entre os parâmetros sanguíneos AGNE, BHBA, colesterol total, HDL, LDL e VLDL, bem como foram estimadas as correlações dos parâmetros com as demais variáveis; idade, ordem de lactação e dias de suplementação no pré-parto.

O modelo estatístico adotado foi: Bloco (1 a 66) + Vaca dentro do bloco (1 a 132) + Ordem de parição (primíparas e múltíparas) + Tratamento (Controle e Vicomb®), através do procedimento MIXED do SAS (v.9.4, Institute Inc., Cary, NC). Na análise das variáveis Cálcio total, colostro, peso corporal e ECC foi utilizado o procedimento GLM do SAS (v.9.4, Institute Inc., Cary, NC). Já para as variáveis dependentes com amostras repetidas no tempo, tais como: AGNE, BHBA, Colesterol total, Triglicerídeos, HDL, LDL, VLDL, produção e composição do leite, o comando "REPEATED" foi adotado e os efeitos de tempo e interação tratamento*tempo foram incluídos no modelo. Por não atender as pressuposições dos modelos lineares, a CCS foi transformada em escore linear (ELCCS) através da fórmula proposta por Ali e Shook (1980); $ELCCS = \log_2 (CCS/100) + 3$.

Para cada variável dependente a melhor estrutura de covariância foi escolhida a partir do menor AIC (Akaike's Information Criteria). O teste de Tukey-Kramer foi utilizado para comparar as médias ajustadas de cada tratamento, a um nível de significância de 5%.

Para análise das variáveis reprodução (% prenhes ao final do experimento e % prenhes a primeira inseminação artificial com distribuição binomial; DEL a primeira inseminação artificial em dias, DEL a concepção em dias, intervalo entre inseminações artificiais em dias, número de inseminações artificiais para a prenhes e intervalo entre partos em dias com distribuição normal), foi utilizado o procedimento PROC GLIMMIX do SAS (v.9.4, Institute Inc., Cary, NC).

3. RESULTADO E DISCUSSÃO

3.1 Escore de condição corporal (ECC) e peso corporal

No período final da gestação e principalmente nas primeiras semanas após o parto é comum os animais em lactação perderem condição corporal. Neste experimento verificamos redução de $-0,36 \pm 0,04$ pontos no ECC dos animais tratamento e $-0,38 \pm 0,04$ pontos no ECC para animais do grupo controle, entre os 21 dias que antecederam ao parto e os 21 dias após o parto. Porém, não houve diferença ($P > 0,05$) nessa redução do ECC entre os tratamentos.

Ao parto os animais deste rebanho comercial apresentaram ECC ao redor de 3,85, conforme representado na Figura 1; o que está muito acima do valor considerado ideal para esse período (ECC de 3,00 a 3,50). As mudanças no ECC entre o final da gestação, parto e início da lactação tem sido responsabilizada por baixar o desempenho produtivo e reprodutivo pós-parto e aumentar a incidência de transtornos metabólicos em vacas de leite (WILDMAN et al., 1982; RUEGG e MILTON, 1995).

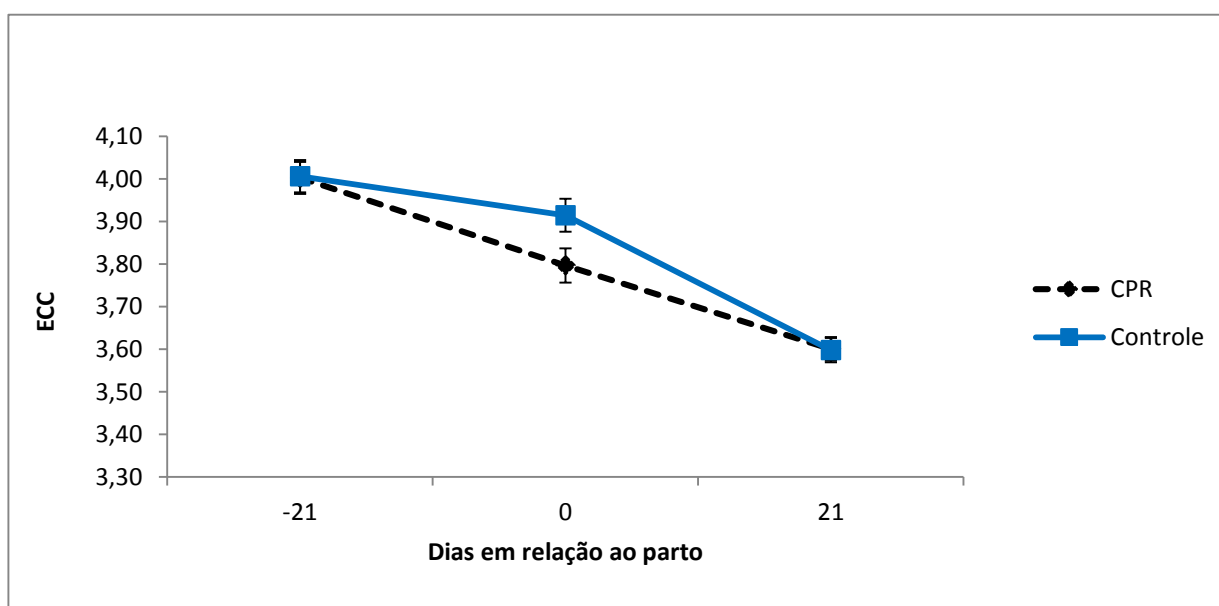


Figura 1. Efeito da suplementação de colina protegida ruminalmente sobre o ECC ao longo do período periparturiente de animais tratados e não tratados com colina.
FONTE: Dados do autor.

Verificou-se redução de $-45,3 \pm 4,14$ para perda de peso dos animais do grupo tratamento e $-43,4 \pm 4,20$ para animais do grupo controle, entre os 21 dias que antecederam o parto e os 21 dias após o parto. Porém, não houve diferença ($P > 0,05$) nessa redução de peso corporal entre os grupos.

Ao parto os animais deste rebanho experimental apresentaram peso corporal ao redor de 703 Kg, conforme Figura 2. A suplementação com colina protegida ruminalmente não gerou influência sobre o peso corporal, a mesma deveria ter reduzido a perda de peso dos animais do grupo tratamento, levando em conta que a colina deve agir na diminuição da mobilização lipídica das reservas corporais.

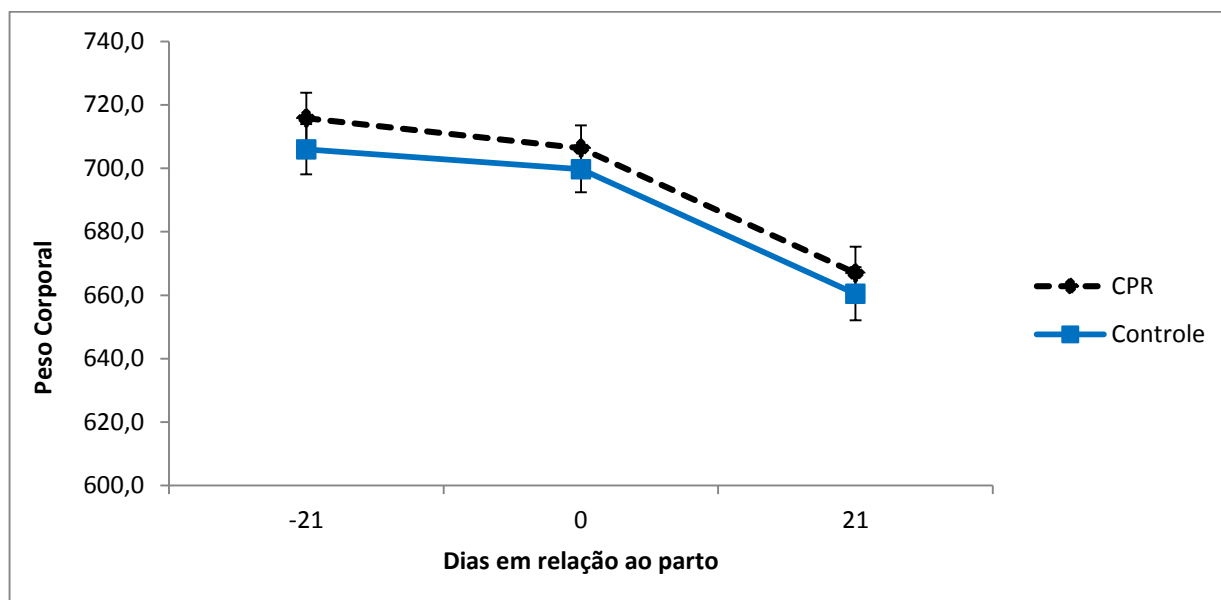


Figura 2. Efeito da suplementação de colina protegida ruminalmente sobre o peso corporal ao longo do período periparturiente de animais tratados e não tratados.

FONTE: Dados do autor.

3.2 Concentrações dos metabólitos sanguíneos

Os valores séricos de AGNE encontrados no presente trabalho, para os dias -14, -7 antes do parto, dia 0 (parto), +7 e +14 após o parto, estão expressos na Figura 3.

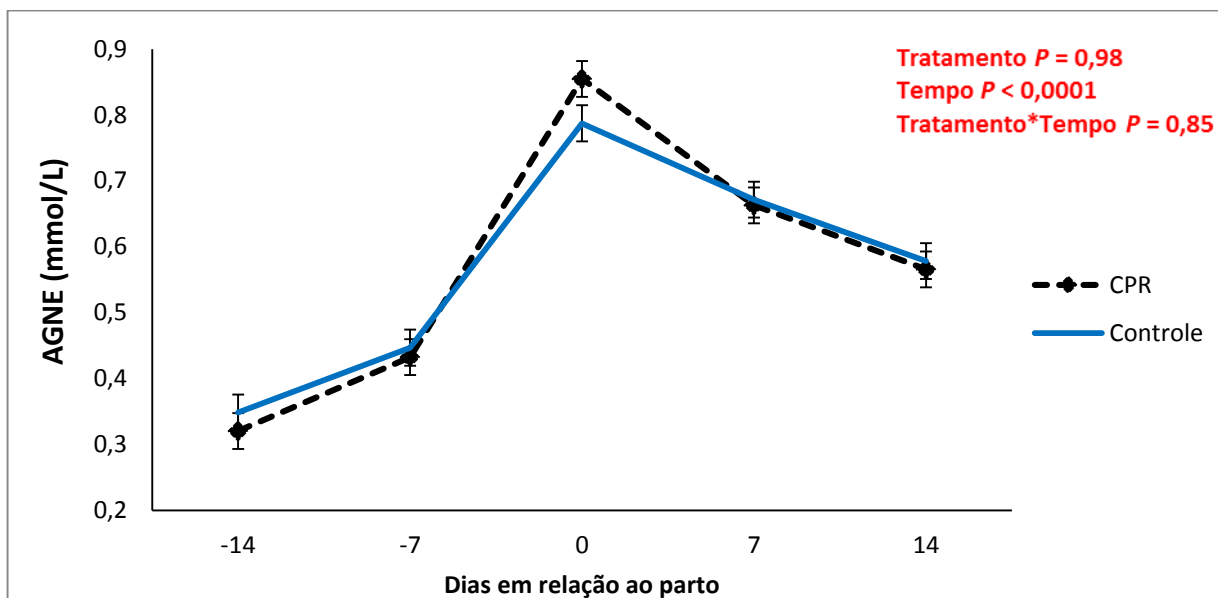


Figura 3. Concentrações séricas de AGNE no periparto de animais tratados e não tratados com colina protegida ruminalmente.

FONTE: Dados do autor.

Mesmo no dia do parto, as concentrações sanguíneas de AGNE não foram significativas ($P > 0,05$) para animais do grupo tratamento (0,85 mmol/L) em relação aos do grupo controle (0,78 mmol/L). Estes resultados indicam que neste rebanho ocorreu um BEN de baixa intensidade e que os animais não tiveram níveis de AGNE considerados como fator de risco para a saúde das vacas no período pós-parto.

O aumento dos valores de AGNE observado a partir do dia do parto é descrito por vários autores (SCHWALM & SCHULTZ, 1976; GURETZKY et al., 2006; LIEN et al., 2010), e segundo Reynolds et al. (2003), é o reflexo da maior liberação de AGNE para a veia porta no início da lactação, devido à rápida mobilização de gordura localizada no mesentério e omento das vacas de leite.

Segundo LeBlanc et al. (2005); Duffield (2009 b) e LeBlanc (2010) a concentração de AGNE é o reflexo da magnitude de mobilização das reservas corporais e começa a aumentar alguns dias antes do parto. A intensidade do BEN em função da diminuição da ingestão de matéria seca e aumento das exigências nutricionais são responsáveis por esta mobilização (BAUMAN e CURRIE, 1980; VAZQUEZ - AÑON et al., 1994; BELL et al., 1995; GRUMMER, 1995).

De acordo com alguns autores (CAMERON et al., 1998; OSPINA et al., 2010 a, 2010 b; CHAPINAL et al., 2011; ROBERTS et al., 2012) as concentrações de AGNE acima de 0,4 mmol/L no pré-parto ou acima de 0,7 mmol/L no pós-parto estão relacionados com maior ocorrência de várias enfermidades no período de transição, sendo um fator de risco para a saúde das vacas no período pós-parto.

No presente estudo não foram encontradas diferenças ($P > 0,05$) nas concentrações sanguíneas de BHBA no soro entre animais do grupo tratamento 0,56 mmol/L e do grupo controle 0,55 mmol/L, conforme Figura 4. As concentrações sanguíneas de BHBA nas tiras-teste também foram similares ($P > 0,05$), sendo 0,76 mmol/L para grupo tratamento e 0,78 mmol/L para grupo controle, conforme Figura 5.

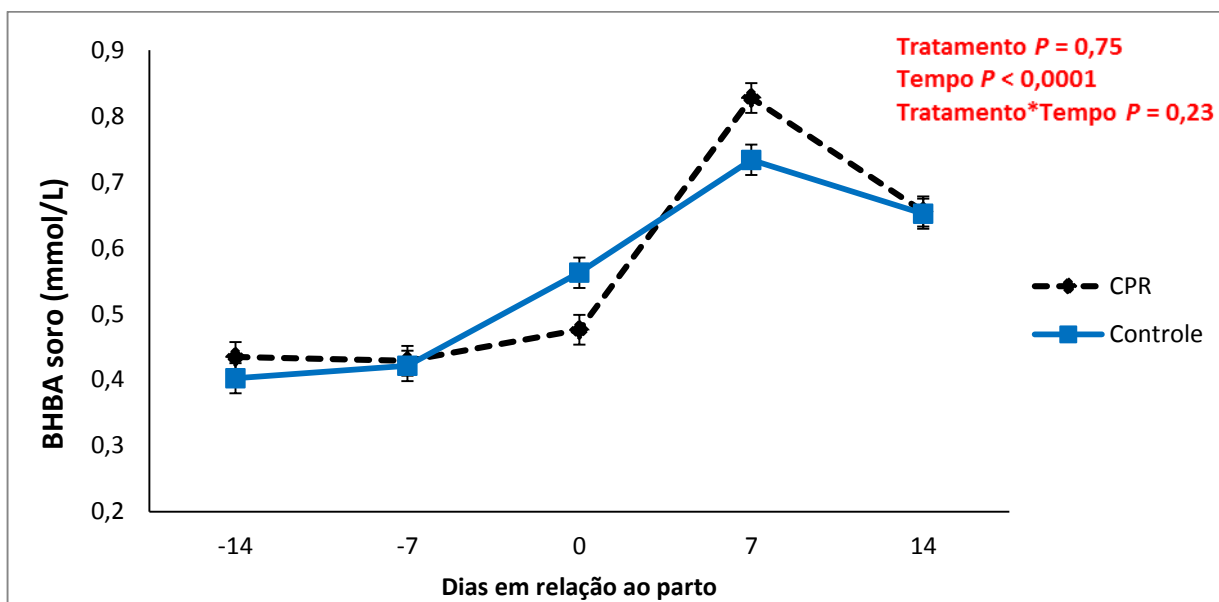


Figura 4. Concentrações séricas de BHBA soro no periparto de animais tratados e não tratados com colina protegida ruminalmente.

FONTE: Dados do autor.

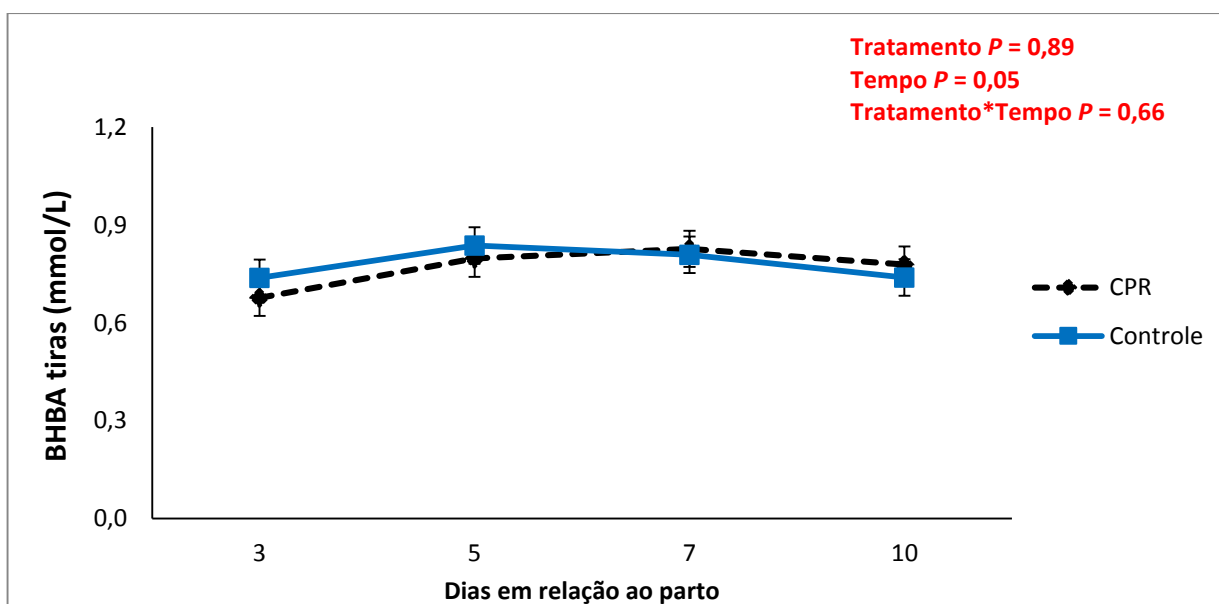


Figura 5. Concentrações séricas de BHBA tiras no periparto de animais tratados e não tratados com colina protegida ruminalmente.

FONTE: Dados do autor.

O BHBA é um dos principais corpos cetônicos produzidos pelo fígado e importante indicador do BEN da vaca (OSPINA et al., 2010 a, b). O aumento da concentração sérica de corpos cetônicos ocorre quando uma quantidade de AGNE excede a capacidade de oxidação pelo fígado (DRACKLEY, 1999; LI et al., 2012).

Os aumentos nas concentrações de BHBA ocorrem momentos após o aumento das concentrações de AGNE (BUSATO et al., 2002; DOEPEL et al., 2002; CAVESTANY et al., 2005).

A elevação do valor de BHBA após o parto é descrita por vários autores (DOEPEL et al., 2002; BERTONI et al., 2008; LIEN et al., 2010; CINCOVIC et al., 2012), que observaram maiores valores na primeira semana após o parto.

LeBlanc et al. (2005) observaram aumento de BHBA uma semana antes do parto, refletindo a precoce mobilização de reservas corporais. Como descrito anteriormente, a intensidade do BEN esta relacionada a intensidade de mobilização de AGNE e consequentemente na produção de BHBA (DRACKLEY, 1999; OSPINA et al., 2010 b; LI et al., 2012).

Chung et al. (2008) avaliaram as concentrações de BHBA e concluíram que em vacas sadias ocorre um aumento cerca de três dias antes do parto e o pico por volta do quinto dia após o parto, sendo que após isso há uma queda gradual.

Os resultados de AGNE e BHBA deste experimento são reflexos da adaptação ao balanço energético e demonstram um baixo risco para o desenvolvimento de distúrbios do metabolismo energético. Entretanto, servem como um alerta para o sistema de produção e demonstram a importância da realização do monitoramento.

Diversos tratamentos profiláticos tem sido desenvolvidos para minimizar a ocorrência de doenças e o BEN, hipocalcemia, cetose e outras doenças do periparto (STUDER, 1993; GOFF & HORST, 1994), com o objetivo de manter altas médias de produção e desempenho reprodutivo (MIYOSHI, 2001). A suplementação de fontes energéticas, no período de transição reduz BHBA e AGNE e aumenta as concentrações plasmáticas de glicose e insulina (BELL, 1980; GRUMMER, 1993; GRUMMER, 1994). Diversos estudos recomendam a utilização profilática de *drench* (mistura de eletrólitos, precursores de glicose e cálcio), diluído em água para tentar reduzir a ocorrência de problemas pós-parto comuns em vacas leiteiras. Esses produtos aumentam a concentração sanguínea de cálcio, minimizam a deficiência energética, reidratam o animal (ENEMARK, 2009; PICKETT, 2003; STOKES & GOFF, 2001), e corrigem desequilíbrios hidro-eletrolíticos e ácido-básicos, através da recomposição da volemia e da homeostase (RIBEIRO FILHO, 2009).

Lewis & Price (1957) demonstraram o tratamento efetivo de vacas que sofrem de infiltração gordurosa no fígado após o parto, mediante a utilização de colina

aplicada por injeção subcutânea. Mais recentemente, Cooke (2007) demonstrou a capacidade da colina dietética para aliviar o acúmulo de lipídeos hepáticos em vacas com indução experimental de fígado gorduroso.

Todos os animais da fazenda eram tratados com Drench, sendo administrada em até 24h após o parto, como alternativa para amenizar o BEN gerado pelo aumento da capacidade de produção das vacas, alguns estudos registraram sucesso com a sua suplementação, reduzindo-se as concentrações plasmáticas de BHBA, ácidos graxos livres, uréia e aumentando as concentrações plasmáticas de glicose, insulina, colesterol e IFG- I (CANFIELD et al., 1990; GRUMMER et al., 1994; FORMIGONI et al., 1996).

Acredita-se que o uso do Drench tenha influenciado nos resultados dos metabólitos AGNE e BHBA, pois o presente estudo mostrou casos de cetose subclínica considerando animais que apresentaram valores de BHBA maiores que 1,2 mmol/L.

Segundo Oetzel (2004), valores de BHBA superiores a 1,2 mmol/L são indicativos de cetose subclínica e estão relacionados com diminuição da saúde, onde foi possível verificar incidência de hipercetonemia (BHBA > 1,2 mmol/L) de 25% (16/64) para grupo tratamento e 30% (19/63) para grupo controle.

As concentrações séricas médias de colesterol variaram entre os momentos. No pré-parto, exibiram valores semelhantes até sete dias antes do parto, declinando a partir do momento em que se aproximava o parto, e mantendo-se estável até o quinto dias pós-parto. A partir daí, apresentou aumento progressivo, atingindo seu maior valor 14 dias após o parto. Observa-se que há diminuição na concentração sérica média do colesterol com aproximação do parto e posterior aumento, no entanto os valores não diferiram ($P > 0,05$) entre os tratamentos, sendo $83,0 \pm 2,1$ mg/dL para o grupo CPR e $85,0 \pm 2,1$ mg/dL para o grupo controle, conforme Figura 6.

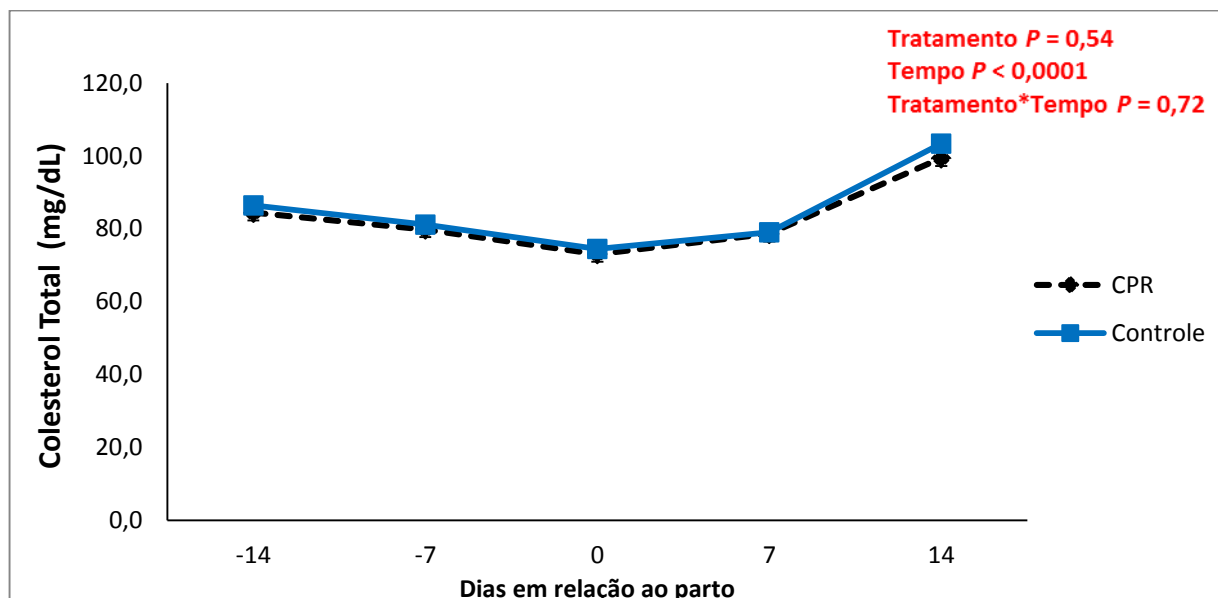


Figura 6. Concentrações séricas de colesterol total no periparto de animais tratados e não tratados com colina protegida ruminalmente.

FONTE: Dados do autor.

A intensidade da diminuição da concentração média de colesterol no pré-parto e a concentração média no dia do parto sugere uma diminuição moderada no consumo. A diminuição na síntese de colesterol ocorre quando há restrição alimentar, levando a menor concentração de insulina e aumento de glucagon. Por isso, normalmente a concentração de colesterol está ligada à ingestão de alimentos, havendo um comportamento similar entre estes. Com a aproximação do parto ocorre diminuição na ingestão de matéria seca (GRUMMER, 1995) e na concentração de colesterol. Da mesma forma, o aumento da ingestão de matéria seca no pós-parto promove o incremento na concentração de colesterol (GURETZKY et al., 2006; STENGÄRD et al., 2008).

Segundo Guretzky et al. (2006) a concentração de colesterol inferior a 77, 34 mg/dL esta associada a baixo consumo voluntário ou a problemas metabólicos (GRUMMER, 1993; GRUM et al., 1996).

Assim como ocorre com o colesterol, verifica-se aumento dos níveis séricos/plasmáticos de triglicerídeos no período absortivo. Durante o processo de absorção dos lipídios nos enterócitos, parte dos ácidos graxos é reesterificada a triglicerídeos, que são incorporados nas lipoproteínas (principalmente VLDL). Estas são liberadas na circulação linfática e, posteriormente, atingem a circulação sanguínea e são direcionadas aos tecidos periféricos (KOZLOSKI, 2009).

Os níveis de triglicerídeos séricos avaliados não apresentaram diferenças estatísticas ($P > 0,05$), conforme expressos na Figura 7, sendo os valores de $14,1 \pm$

0,29 mg/dL para animais do grupo tratamento e $13,5 \pm 0,30$ mg/dL para animais do grupo controle. Os triglicerídeos são usados pela glândula mamária como precursores de gordura (BAUMAN e GRIINARI, 2003) e a queda dos teores de TG sanguíneos pode ser em decorrência de seu catabolismo que ocorre na glândula mamária neste período (VAN DEN TOP et al., 1996; SCHWALM e SCHULTZ, 1976). Van den Top et al. (2005) demonstraram aumento da atividade da enzima lipoproteína lipase na glândula mamária em vacas lactantes. Essa enzima é responsável por hidrolisar os triglicerídeos que estão ligados ao VLDL. Os ácidos graxos livres resultantes são usados para formar a gordura do leite (BLUM et al., 1983; PARK et al., 2010).

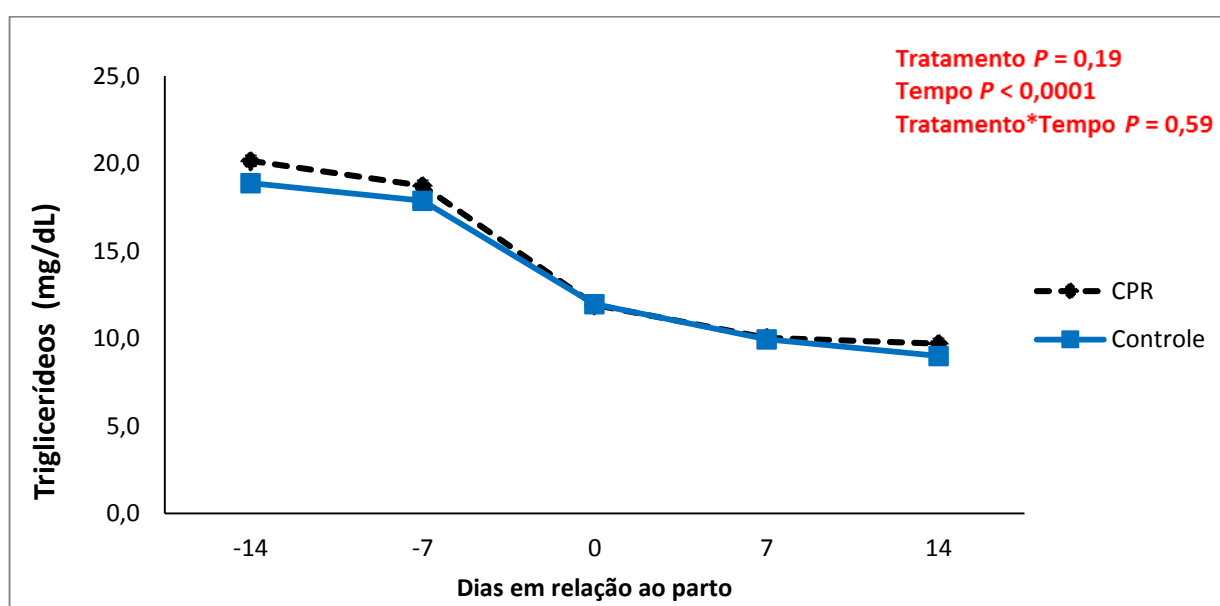


Figura 7. Concentrações séricas de triglicerídeos no periparto de animais tratados e não tratados com colina protegida ruminalmente.

FONTE: Dados do autor.

No período absorptivo, no qual ocorre a absorção dos nutrientes após a alimentação, cerca de 95% dos lipídios plasmáticos totais estão associados a lipoproteínas, enquanto 5% estão na forma de AGNE e circulam ligados a albumina. Cerca de 90% dos lipídios ligados a lipoproteínas são transportados aos tecidos periféricos na forma de fosfolipídios e colesterol. Nos ruminantes estes compostos estão ligados, principalmente, a lipoproteínas de densidade muito baixa – VLDL (KOZLOSKI, 2009).

O colesterol é um indicador confiável do metabolismo energético no fígado, particularmente da exportação de lipídios na forma de VLDL (NDLOVU et al., 2007). Como as concentrações de VLDL neste trabalho foram estimadas a partir das concentrações dos triglicerídeos, dinâmica do VLDL foi semelhante à dinâmica dos

triglicerídeos; $2,8 \pm 0,05$ mg/dL para animais o grupo tratamento e $2,7 \pm 0,06$ mg/dL para animais do grupo controle, conforme Figura 8, demonstrando o conceito descrito por Hocquette e Bauchart (1999) e por Kaneko et al. (2008), onde a disponibilidade da VLDL é fundamental para o transporte de triglicerídeos.

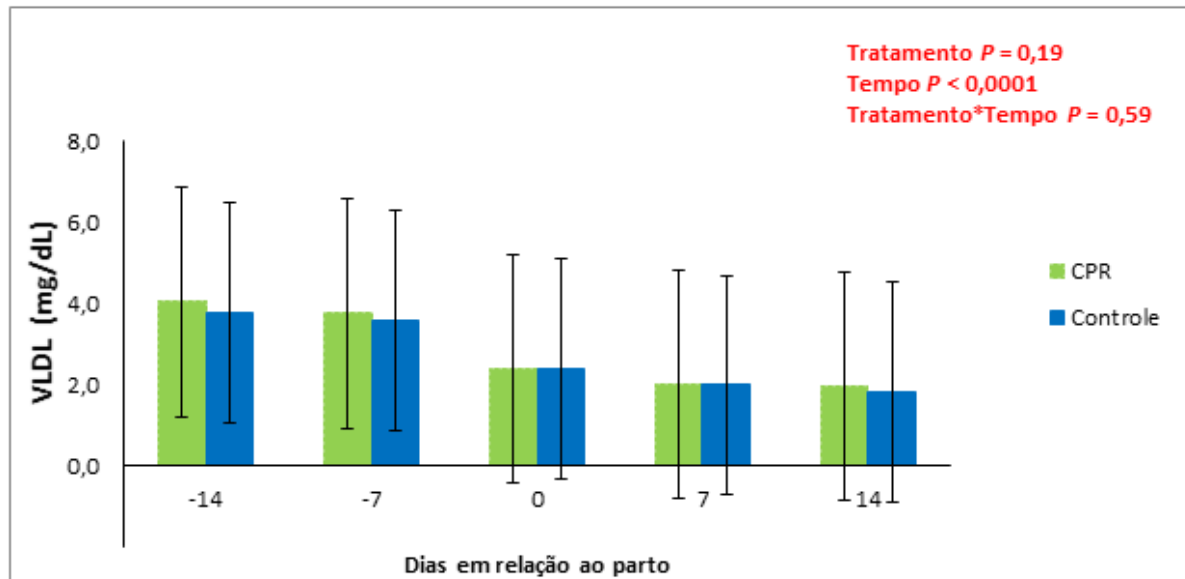


Figura 8. Concentrações séricas de VLDL no periparto de animais tratados e não tratados com colina protegida ruminalmente.

FONTE: Dados do autor.

Estes mesmos autores afirmam que a baixa capacidade de produção desta lipoproteína dos bovinos, comparado com outra espécie, especialmente animais na fase de gestação e lactação, faz com que a capacidade de transporte de triglicerídeos e de reciclagem de grandes quantidades de AGNE fiquem comprometidas, predispondo a quadros de esteatose hepática.

Em relação as lipoproteínas, a concentração sérica de HDL (Figura 9), não sofreu variação significativa ($P > 0,05$), sendo as médias $53,8 \pm 1,02$ mg/dL para os animais do grupo tratamento e $54,9 \pm 1,02$ mg/dL para animais do grupo controle.

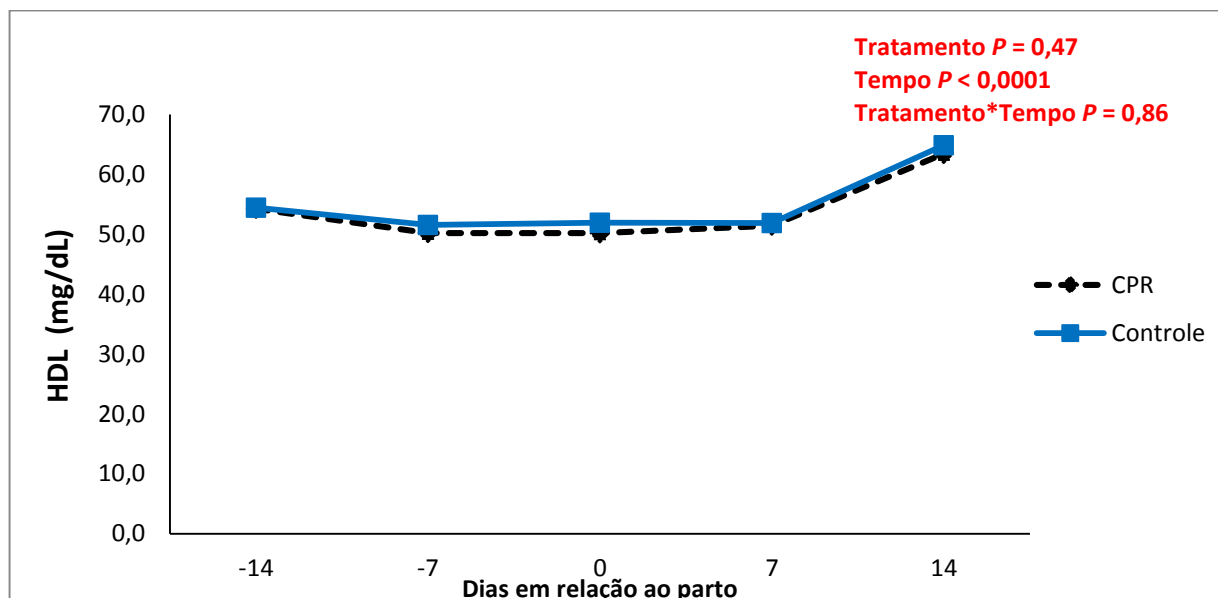


Figura 9. Concentrações séricas de HDL no periparto de animais tratados e não tratados com colina protegida ruminalmente.

FONTE: Dados do autor.

Ceballos et al. (2002) afirmaram que a HDL encontra-se mais baixa no período pré-parto devido a exigência energética, necessária para o crescimento do feto e preparação da glândula mamária.

A LDL apresentou aumento gradativo no puerpério, com dinâmica idêntica a do colesterol, pois esta lipoproteína é a principal carreadora deste metabólito (GONZÁLEZ, SILVA, 2006; KANEKO et al., 2008; BAUCHART, 1993), com concentrações similares entre os tratamentos; $26,3 \pm 1,21$ mg/dL para animais do grupo tratamento e $27,2 \pm 1,22$ mg/dL para animais do grupo controle, conforme Figura 10.

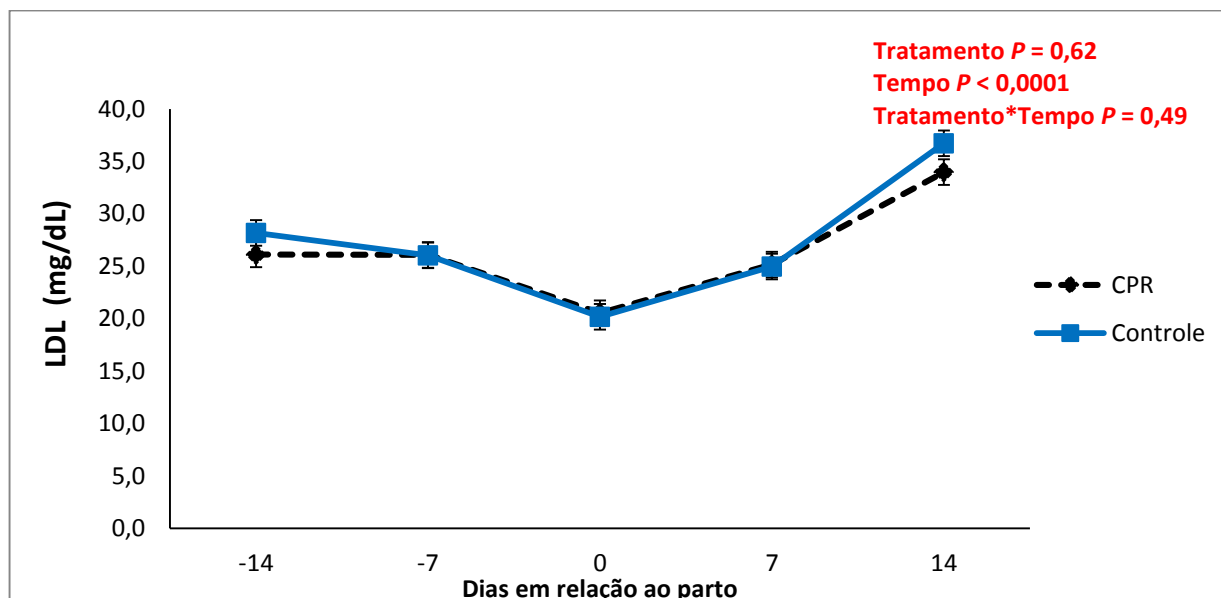


Figura 10. Concentrações séricas de LDL no periparto de animais tratados e não tratados com colina protegida ruminalmente.

FONTE: Dados do autor.

Durante este experimento, verificou-se os níveis séricos de cálcio total conforme expressos na Figura 11.

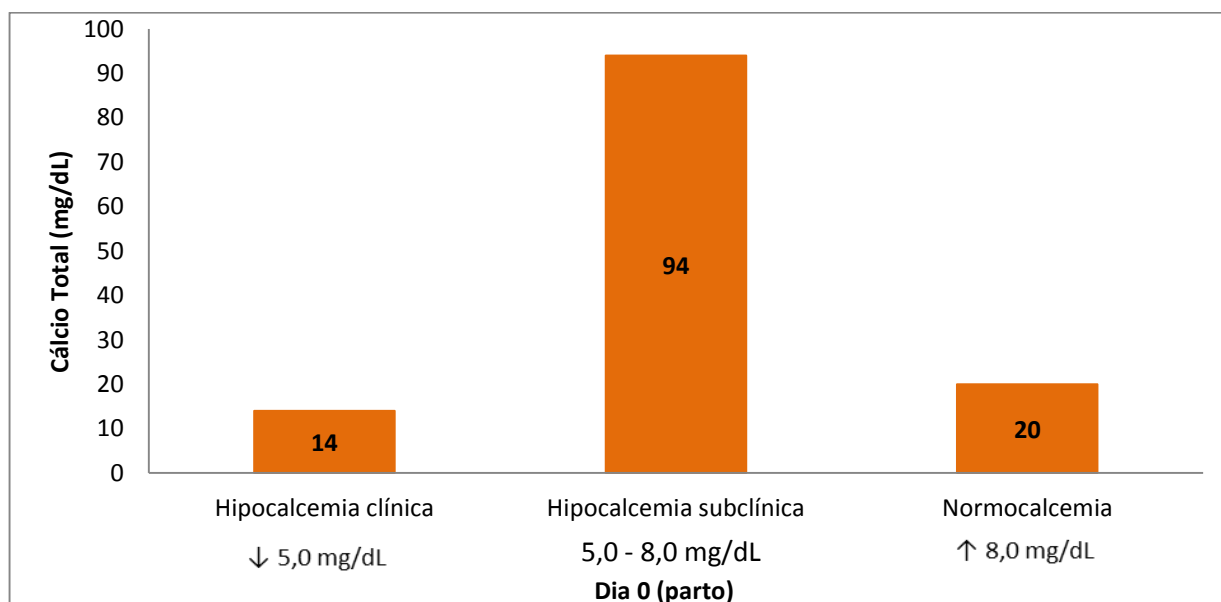


Figura 11. Concentrações séricas de cálcio total no periparto de animais tratados e não tratados com colina protegida ruminalmente.

FONTE: Dados do autor.

Constatou-se que dos 128 animais amostrados no dia do parto, 14 apresentaram hipocalcemia clínica, com níveis inferiores a 5 mg/dL, 94 com hipocalcemia subclínica, com concentrações de cálcio total entre 5,0 e 8,0 mg/dL e apenas 20 animais com níveis considerados normais, acima de 8,0 mg/dL.

Esses valores podem ser explicados por uma rápida depleção de cálcio ionizado e da sua mobilização para a formação do colostro, maturação fetal e produção de leite (SMITH, RISCO, 2005).

Baixos níveis de cálcio sanguíneo causam redução na ingestão de alimentos, menor motilidade ruminal e intestinal, decréscimo na produtividade e aumento na suscetibilidade de outras doenças infecciosas e metabólicas, principalmente hipocalcemia, particularmente em vacas leiteiras multíparas e de alta produtividade (HORST et al., 1997; SEIFI et al., 2003; GOFF, 2008; WU et al., 2008).

Até que o sistema digestivo tenha a capacidade de absorver cálcio, este deve ser obtido pela reabsorção óssea. A acidose metabólica promovida pela diferença da DCAD negativa favorece a mobilização de cálcio do osso, enquanto altas concentrações de potássio e DCAD positiva passam a inibir o processo de reabsorção óssea.

De acordo com González e Silva (2006), a hipocalcemia é frequente em vacas leiteiras de alta produção, devido a migração deste mineral durante a lactação para a glândula mamária, pois a quantidade disponível no sangue é baixa, cerca de 1% ou 8 g do total geral. A perda diária de uma vaca que produz 30 kg de leite/dia é de 36 g de cálcio, o que é retirado principalmente dos ossos, fazendo com que durante a lactação perca em torno de 18% de cálcio ósseo.

Assim, o monitoramento da concentração sérica de Ca total torna-se importante na primeira semana de lactação (DUFFIELD & LEBLANC, 2009).

3.3 Produção leiteira

A produção leiteira dos animais experimentais foi avaliada diariamente durante os 100 primeiros dias de produção, não apresentando diferença estatística significativa ($P > 0,05$), para os animais do grupo tratamento e animais do grupo controle, conforme expresso na Figura 12.

A produção média (kg/leite) para animais do grupo tratamento e grupo controle foi respectivamente, $40,66 \pm 0,89$ L/dia e $40,83 \pm 0,90$ L/dia ($P = 0,89$).

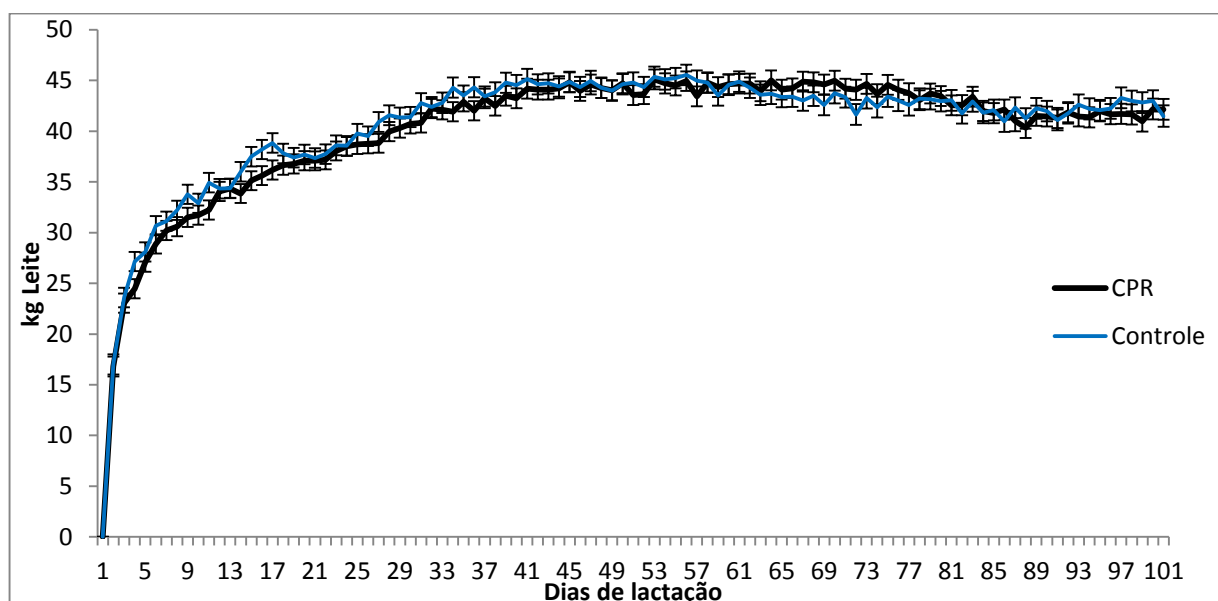


Figura 12. Produção de leite nos primeiros 100 dias de lactação para animais tratados e não tratados com colina protegida ruminalmente.

FONTE: Dados do autor.

Os resultados observados contradizem a maioria dos artigos revisados, os quais relatam moderados incrementos no desempenho lactacional de vacas suplementadas com colina protegida ruminalmente.

Janovick Guretzky et al. (2006), avaliando o efeito da suplementação de vacas Jersey e Holândes com 60 g de colina protegida, não observaram diferença na produção de leite, embora a produção de leite para o grupo suplementado tenha sido 2,3 kg de leite por dia maior.

Piepenbrink e Overton (2003), ao suplementarem vacas da raça Holandesa com 0, 45, 60 e 75 g de colina protegida nos 21 dias prévios a data de parto esperada até os 63 dias em lactação, não observaram diferença na produção de leite entre os grupos avaliados, embora as vacas suplementadas com colina protegida tenham apresentado tendência em produzir mais leite e também mais leite corrigido para 3,5% de gordura. As vacas suplementadas com colina protegida apresentaram menor capacidade em acumular ácidos graxos não esterificados e também maiores conteúdo de glicogênio no fígado, o que pode explicar a maior tendência em produzir leite das vacas suplementadas com colina protegida.

3.4 Composição do leite e relação %gordura: %proteína

Os dados da composição do leite de vacas primíparas e múltiparas amostradas no pós-parto foram combinados na análise e os resultados dos valores médios e os respectivos desvios-padrão das variáveis para os animais do grupo

tratamento e grupo controle são apresentados na Tabela 4.

TABELA 4 – Análise descritiva das variáveis estudadas do grupo pós-parto referente aos animais do grupo tratamento e grupo controle.

Variável	Grupo tratamento	Grupo Controle
	Média ± DP	Média ± DP
% Gordura	4,03 ± 0,07	4,12 ± 0,07
% Proteína	3,16 ± 0,03	3,17 ± 0,03
RGP ¹	1,29 ± 0,02	1,31 ± 0,02
% Lactose	4,56 ± 0,03	4,51 ± 0,03
% Sólidos totais	12,74 ± 0,08	12,79 ± 0,08
% NUL ²	9,69 ± 0,34	10,34 ± 0,35
CCS ³	175,51 ± 76,42	311,53 ± 77,14
ELCCS ⁴	2,13 ± 0,22	2,25 ± 0,22

FONTE: Dados do autor.

¹Relação gordura e proteína; ²Nitrogênio uréico no leite; ³Contagem de células somáticas;

⁴Escore linear de células somáticas.

A relação entre a porcentagem de gordura e de proteína no leite auxilia a dimensionar a mobilização da gordura corporal, típica do início da lactação. Quanto maior for esta relação, mais intensa é a mobilização de tecido adiposo e direcionamento de gordura, na forma de ácidos graxos não esterificados (AGNE) para a glândula mamária (BAUMAN, 1999).

No primeiro controle leiteiro realizado no dia +7 após o parto, os animais do grupo controle apresentaram teores de proteína no leite superiores aos animais do grupo tratamento; 3,57% vs. 3,54% ($P = 0,69$). Porém, os teores de gordura no leite e a RGP não diferiram ($P > 0,05$) entre os grupos, no entanto mostram teores muito próximos, indicando que a intensidade de lipólise no pós-parto para a síntese de sólidos no leite entre animais de ambos os grupos, não foi influenciada pela suplementação de colina protegida ruminalmente ao longo do período de transição, conforme expressos na Tabela 5.

TABELA 5 – Teores de gordura , proteína e relação %gordura : %proteína no primeiro, segundo e terceiro controle leiteiro, realizado nos dias +7, +14 e +21 após o parto para animais tratados e não tratados com colina protegida ruminalmente.

Variáveis	Grupo Tratamento	Grupo Controle	EPM	P
1º Controle leiteiro				
% Gordura	4,39	4,62	0,09	0,11
% Proteína	3,54	3,57	0,04	0,69
Relação %G:%P	1,25	1,30	0,03	0,23
2º Controle leiteiro				
% Gordura	4,07	3,96	0,10	0,49
% Proteína	3,02	3,07	0,04	0,36
Relação %G:%P	1,37	1,30	0,04	0,32
3º Controle leiteiro				
% Gordura	3,67	3,74	0,09	0,59
% Proteína	2,92	2,86	0,03	0,17
Relação %G:%P	1,26	1,31	0,03	0,31

FONTE: Dados do autor.

*Diferença significativa ($P < 0,05$).

EPM = Erro padrão da média.

As médias dos teores de gordura referente aos animais do grupo tratamento e animais do grupo controle não apresentaram diferenças significativas ($P > 0,05$), $4,03\% \pm 0,07$ vs. $4,12\% \pm 0,07$ respectivamente, conforme expresso na Figura 13.

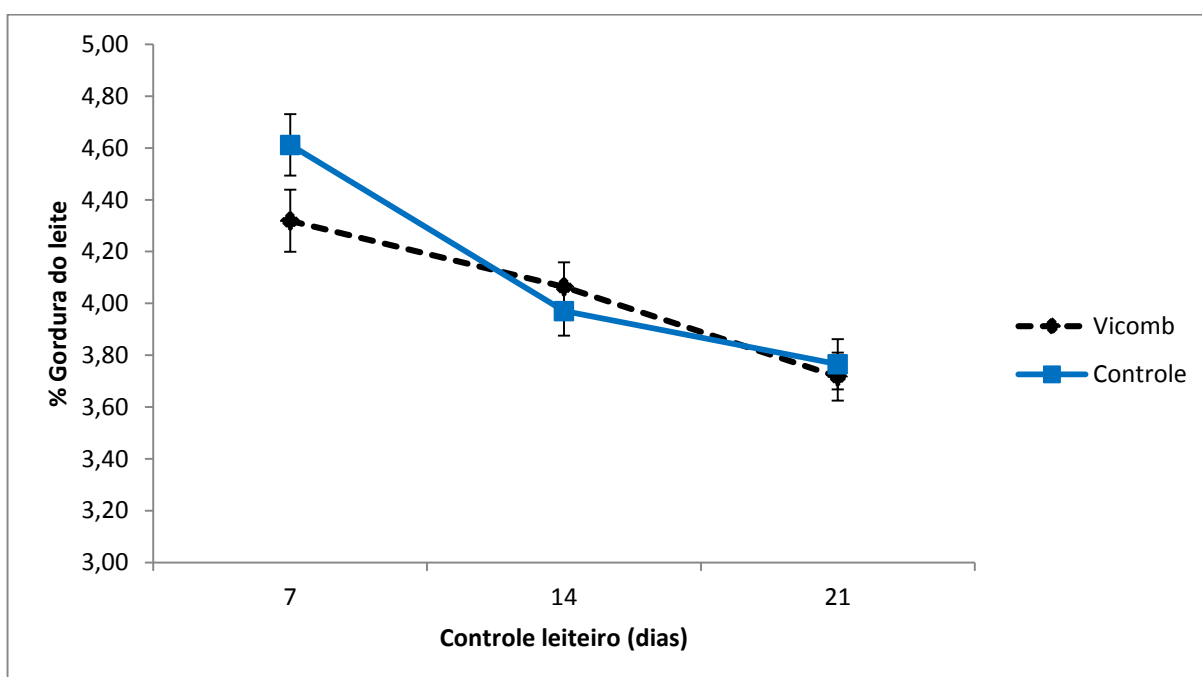


Figura 13. Teor da % de gordura do leite após o parto para animais tratados e não tratados com colina protegida ruminalmente.

FONTE: Dados do autor.

A média do teor de proteína apresentados pelos animais do grupo tratamento e animais do grupo controle foi $3,16\% \pm 0,03$ e $3,17\% \pm 0,03$ respectivamente, conforme expressos na Figura 14. Assim como os teores de gordura, os teores de proteína sofreram influência da variável tempo ($P < 0,01$), não tendo o tratamento influenciado nessa variação ($P > 0,05$).

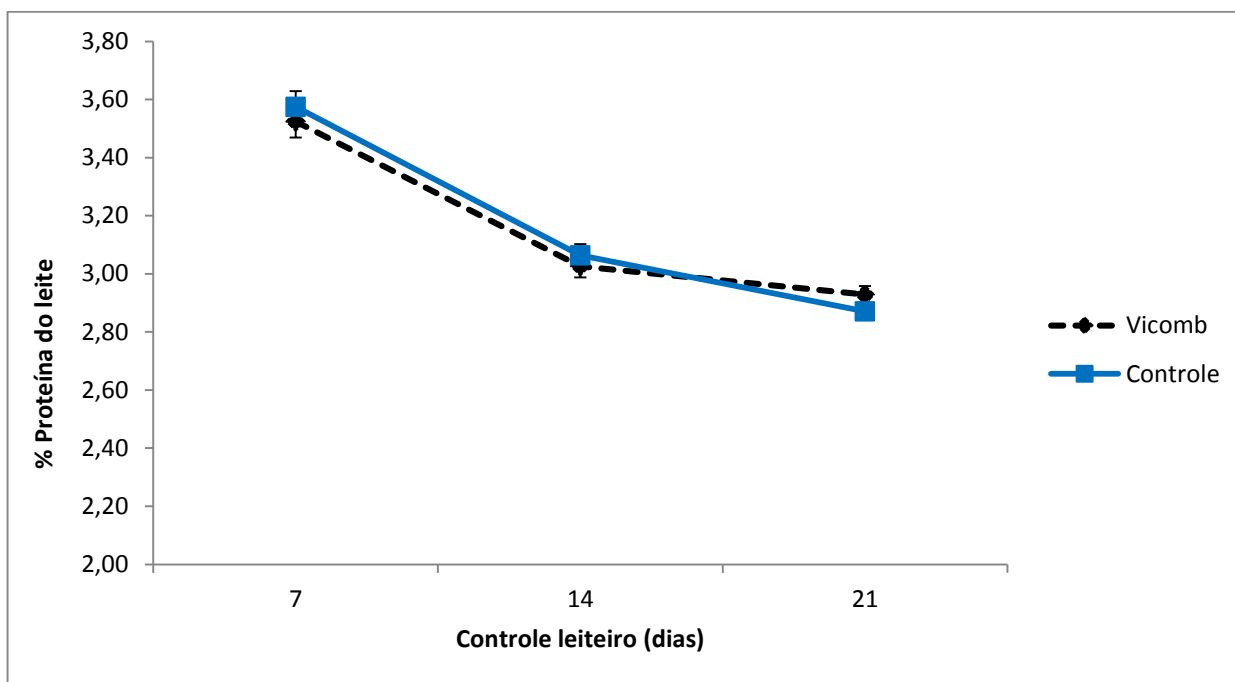


Figura 14. Teor da % de proteína do leite após o parto para animais tratados e não tratados com colina protegida ruminalmente.

FONTE: Dados do autor.

A %RGP em ambos os grupos não apresentou diferença estatística ($P > 0,05$), sendo as médias $1,29\% \pm 0,02$ para animais do grupo tratamento e $1,31\% \pm 0,03$ para animais do grupo controle, conforme expressos na Figura 15. A variável tempo não influenciou nos resultados de forma significativa ($P > 0,05$), bem como o tratamento também não interferiu na relação entre as variáveis tempo e %RGP ($P > 0,05$).

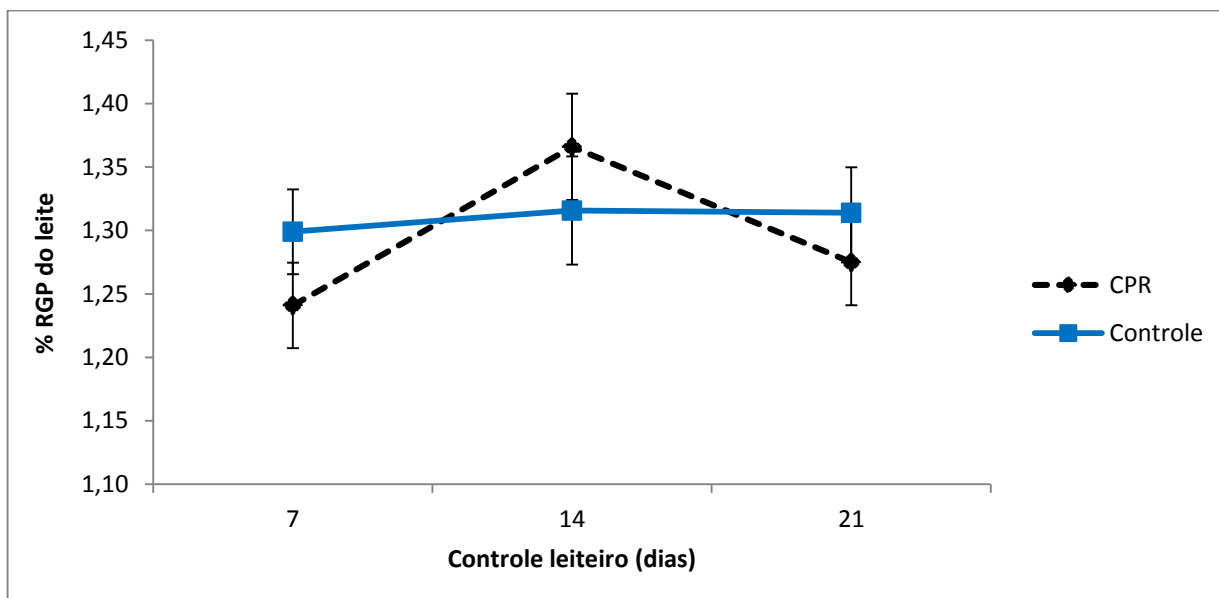


Figura 15. Teor da % da RGP após o parto para animais tratados e não tratados com colina protegida ruminalmente.

FONTE: Dados do autor.

3.5 Colostro

Foram avaliadas 106 amostras de colostro após o parto, através do refratômetro óptico de brix, sendo que os valores obtidos não apresentaram diferença ($P > 0,05$) entre os grupos experimentais, sendo $19,8\% \pm 0,72$ para animais do grupo tratamento e $20,0\% \pm 0,70$ para animais do grupo controle, conforme expresso na Figura 16. No presente estudo, mais de 50% dos animais experimentais apresentaram valores de brix inferiores a 21% (sendo 26 animais do grupo tratamento e 28 animais do grupo controle), indicando qualidade insatisfatória do colostro, porém a suplementação com colina protegida ruminalmente no pré-parto não alterou ($P > 0,05$) esta porcentagem.

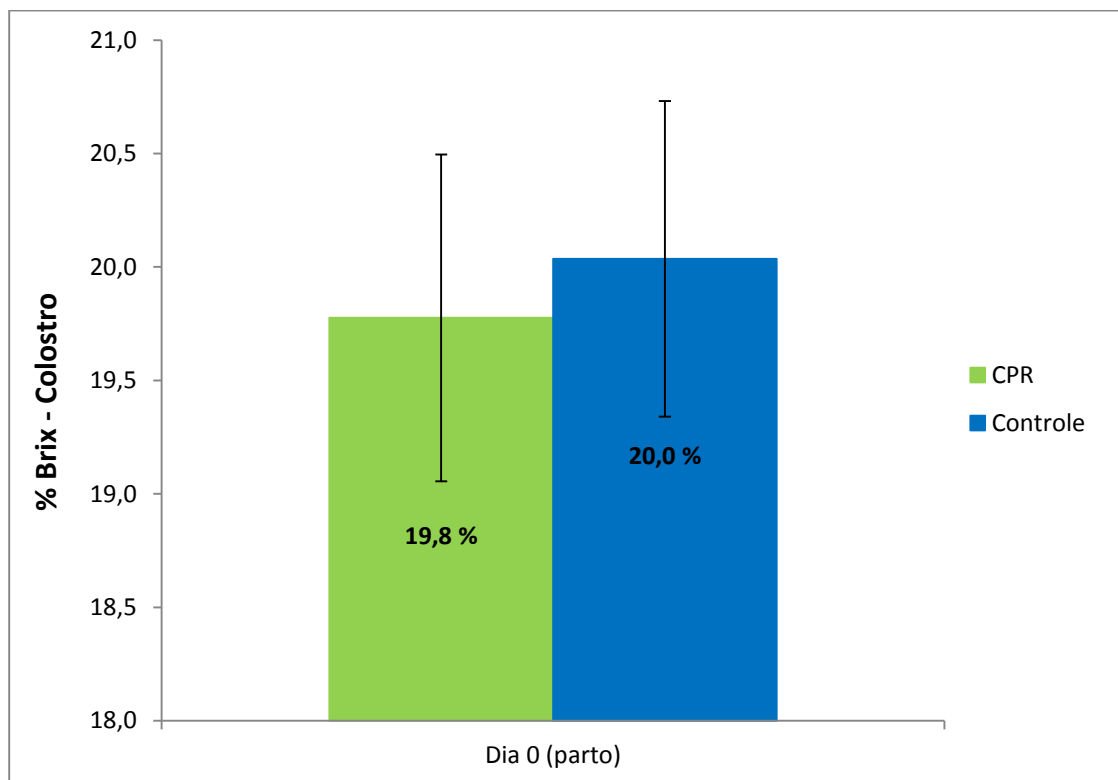


Figura 16. % brix do colostro após o parto para animais tratados e não tratados com colina protegida ruminalmente.

FONTE: Dados do autor.

3.6 Reprodução

A suplementação de colina protegida ruminalmente não manifestou nenhum efeito significativo sobre o retorno reprodutivo dos animais do grupo tratamento em relação ao grupo controle ao longo do período experimental, sendo os dados na Tabela 6.

TABELA 6 – Efeito da suplementação de colina protegida ruminalmente sobre o status reprodutivo dos animais experimentais um ano após o término do experimento (dezembro de 2015).

Experimento	Prenha	Descarte/Morte	Vazia/IA ¹
Grupo Tratamento (CPR)	44	20	2
Grupo Controle	37	26	3

FONTE: Dados do autor.

¹Inseminação artificial.

Embora os dados brutos referentes a Tabela 6, indiquem números favoráveis de animais prenhez suplementados com CPR, na análise estatística realizada para as variáveis citadas na Tabela 7 não foram significativas para animais do grupo tratamento em relação aos animais do grupo controle.

TABELA 7 – Análise descritiva dos grupos experimentais após retorno reprodutivo.

Variáveis	Grupo Tratamento	Grupo Controle	EPM	P
Prenhez ao final do experimento, %	95,65	92,50	-	0,54
Prenhez a 1ª IA ¹ , %	15,22	15,00	-	0,75
DEL ² a 1ª IA, dias	75,09	82,80	3,4	0,10
DEL a concepção, dias	210,82	236,54	19,31	0,12
Intervalo entre IA, dias	37,47	43,41	5,89	0,09
Nº de IA para prenhez	3,71	3,90	0,36	0,46
IEP ³ , dias	496,24	516,77	19,52	0,24

FONTE: Dados do autor.

¹Inseminação artificial; ²Dias em leite; ³Intervalo entre partos.

Entre as variáveis reprodutivas analisadas, para três delas observa-se uma tendência de melhoria do desempenho reprodutivo em vacas tratadas com colina protegida ruminalmente; vacas do grupo tratamento apresentaram menor DEL a primeira inseminação artificial (75,1 vs. 82,8 dias; $P = 0,10$), menor DEL a concepção (210,8 vs. 236,5 dias; $P = 0,12$) e menor intervalo entre inseminação artificial (37,5 vs. 43,4 dias; $P = 0,09$).

Em um estudo realizado na Universidade de Queensland em 2012, verificou-se que a suplementação de colina protegida ruminalmente pode influenciar a função reprodutiva, onde foi possível observar que o tamanho do folículo dominante foi maior nas semanas 3 e 6 pós-parto em vacas que recebiam CPR, além de uma maior proporção dessas vacas terem ovulado na 6ª semana, em comparação com as não suplementadas.

4. CONCLUSÃO

Nas condições experimentais, a suplementação de colina protegida ruminalmente, não apresentou alterações significativas sobre as concentrações séricas dos parâmetros metabólicos, produção e composição do leite, porém verificou-se alguns benefícios para as funções reprodutivas.

5. IMPLICAÇÕES

O conhecimento do comportamento dos metabólitos sanguíneos envolvidos com o metabolismo energético dos animais durante o período de transição é uma ferramenta importante para a pecuária leiteira, devendo se tornar uma prática mais corriqueiramente adotada por técnicos e produtores.

A utilização do monitoramento do perfil metabólico proporciona aos criadores adotar medidas de manejo no período periparturiente, de modo a evitar a intensificação do balanço energético negativo e com isso, minimizar a incidência de desordens metabólicas e consequente queda na produção leiteira, bem como atrasos na reconcepção.

Os resultados de AGNE, BHBA e Colesterol total encontrados no presente estudo demonstram que os animais apresentaram balanço energético negativo discreto, indicando possivelmente que as medidas adotadas pela propriedade em relação ao manejo, nutrição e conforto das vacas neste período estão atendendo as necessidades dos animais.

A suplementação com Drench, protocolo da fazenda e mantido em todas as vacas experimentais, pode ter ofuscado os potenciais benefícios da suplementação da colina.

Desta forma e ao contrário do senso comum que impera na indústria leiteira, acreditamos que nem todo rebanho pode ser beneficiado pela suplementação de colina protegida ruminalmente.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALI, A. K. A.; SHOOK, G. E. An optimum transformation for somatic cell concentration in milk. **Journal of Dairy Science**, v.63, p.487–490, 1980.

BAUCHART, D. Lipid absorption and transport in ruminants. **Journal of Dairy Science**, v.76, n.12, p.3864-3881, 1993.

BAUMAN D.E & CURRIE W.B. Partitioning of nutrients during pregnancy and lactation: A review of mechanisms involving homeostasis and homeorhesis. **Journal of Dairy Science** 63:1514-1529. 1980.

BAUMAN, D.E. Bovine somatotropin and lactation: from basic science to commercial application. **Domestic Animal Endocrinology**. v. 17, p.101-166, 1999.

BAUMAN, D.E.; GRIINARI, J.M. Nutritional regulation of milk fat synthesis. **Annu.Rev. Nutr.**, v.23, p.203-227, 2003.

BAUMGARD L.H.; ODENS L.J.; KAY J.K.; RHOADS R.P.; VAN BAALE M.J.;COLLIER, R.J. 2006. **Does Negative Energy Balance (NEBAL) limit milk synthesis in early lactation?** Anais 21º Annual Southwest Nutrition and Management Conference, Tempe, AZ, p. 181-187.

BEAUCHEMIN, K. A.; BOWMAN, G. R.; RODE, L. M. et al. Effects of feeding anionic products to non-lactating dairy cows on urine pH. **Canadian Journal of Animal Science**, n.387, p.609-612, 2003.

BELL A. W.; SLEPETIS R. & EHRHARDT R.A. Growth and accretion of energy and protein in the gravid uterus during late pregnancy in Holstein cows. **Journal of Dairy Science** 78:1954-1961. 1995.

BELL, A.W. Lipid metabolism in the liver and selected tissues and in the whole body of ruminant animals. **Prog. Lipid Research**, v.18, p.117. 1980.

BERTONI G.; TREVISI E.; HAN, X & BIONAZ, M. Effects of inflammatory conditions on liver activity in puerperium period and consequences for performance in dairy cows. **Journal of Dairy Science** 91:3300-3310. 2008.

BLOCK, E. **Manipulation of dietary cation-anion difference on nutritionally related production diseases, productivity, and metabolic responses of dairy cows.** In: **Simpósio Internacional de Ruminantes.** XXXI Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia. Maringá-PR. 1994. p 21-48.

BLUM, J.W.; KUNS, P.; LEUENBERGER, H. Thyroid hormones, blood plasma metabolites and hematological parameters in relationship to milk yield in dairy cows. **Animal Production.** v. 36, p.93-104, 1983.

BURHANS, W. S.; BELL, A. W.; NADEAU, R. et al. Factors associated with transition cow ketosis incidence in selected New England herds. **Journal of Dairy Science**, v.86, suppl.1, p.247, 2003. (Abstracts).

BUSATO A., FAISSE D., KUPFER U. & BLUM J.W.2002. Body condition scores in dairy cows: associations with metabolic and endocrine changes in healthy dairy cows. **J. Vet. Med. A, Physiol. Pathol. Clin. Med.** 49:455-460.

CAMERON, R. E. B., et al. Dry cow diet, management, and energy balance as risk factors for displaced abomasum in high producing dairy herds. **Journal of Dairy Science**, v.81, p.132–139, 1998.

CANFIELD, R.W.; SNIFFEN, C.J.; BUTLER, W.R. Effects of excess degradable protein on postpartum reproduction and energy balance in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, v.73, p.2342, 1990.

CAVESTANY D., BLANC J.E., KULCSAR M., URIARTE G., CHILIBROSTE P., MEIKLE A., FEBEL H., FERRARIS A. & KRALL E. 2005. Studies of the transition cow under a pasture-based milk production system: metabolic profiles. **J. Vet. Med. A Physiol. Pathol. Clin. Med.** 52(1):1-7

CHAPINAL, N.; et al. The association of serum metabolites with clinical disease during the transition period. **Journal of Dairy Science**, v. 94, p.4897–4903, 2011.

CHUNG, Y.M. et al. Effects of prepartum dietary carbohydrate source and monensin on periparturient metabolism and lactation in multiparous cows. **Journal of Dairy Science**, v. 91, p.2744-2758, 2008.

CINCOVIC R.M.; BRANISLAVA B.; BILJANA R.; HRISTOV S. & DOKOVIC R. Influence of lipolysis and ketogenesis to metabolic and haematological parameters in dairy cows during periparturient period. **Acta Vet. Beogra.** 62 (4): 429-444. 2012.

COOK, R.F.; DEL RIO, N.S.; CARAVIELLO, D.Z.; BERTICS, S.J.; RAMOS, M.H & GRUMMER, R.R. Supplemental choline for prevention and alleviation of fatty liver in dairy cattle. **Journal of Dairy Science.** 90:2413-2418.2007.

DANN, H. M.; VARGA, G. A.; PUTMAN, D. E. Improving energy supply to late gestation and early postpartum dairy cows. **Journal of Dairy Science.**, v.82, n.8, p.1765-1778, 1999.

DOEPEL L.; LAPIERRE H & KENNELLY J.J. Peripartum performance and metabolism of dairy cows in response to prepartum energy and protein intake. **Journal of Dairy Science** 85: 2315-2334. 2002.

DRACKLEY, J. K.; DANN, H. M.; DOUGLAS, G. N. et al. Physiological and pathological adaptations in dairy cows that may increase susceptibility to periparturient diseases and disorders. Ital. **Journal of Dairy Science.**, v.4, n.4, p.323-344, 2005.

DRACKLEY, J. K. Biology of dairy cows during the transition period: the final frontier? **Journal of Dairy Science**, v.82, p.2259–2273, 1999.

DUFFIELD, T. F.; BAGG, R. Herd level indicators for the prediction of high-risk dairy herds for subclinical ketosis. In: Annual Convention of the American Association of Bovine Practitioners, 35., 2002, Ohaio. **Proceedings...**Ohaio, 2002, p.175-176.

DUFFIELD, T.F., LEBLANC, S. J. **Interpretation of serum metabolic parameters around the transition period.** In: Southwest Nutrition and Management Conference, 24, Arizona, p.106-114, 2009.

EDMONSON, A. J.; et al. A body condition scoring chart for Holstein dairy cows. **Journal of Dairy Science.** v.72, p. 68–81, 1989.

ENEMARK, J.M.; SCHMIDT, H.B.; JAKOBSEN, J & ENEVOLDSEN, C. Failure to improve energy balance or dehydration by drenching transition cows with water and electrolytes at calving. **Vet Res Commun.** 33: 123-137. 2009.

FORMIGONI, A.; CORNIL, M.C.; PRANDI, A.; MORDENTI, A.; ROSSI, A.; PORTETELLE, D.; RENAUVILLE, R. Effect of propylene glycol supplementation around parturition on milk yield, reproduction performance and some hormonal and metabolic characteristics in dairy cows. **Journal of Dairy Research**. V.63, p.11-24, 1996.

FRIEDEWALD, W.T.; LEVY, R.I.; FREDRICKSON, D.S. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. **Clin Chem**, 1972;18:499-502. 1972.

GOFF, J.P. 2008. The monitoring, prevention, and treatment of milk fever and subclinical hypocalcemia in dairy cows. **Vet. J.** 176:50-57.

GOFF, J.P. & HORST, R.L. Calcium salts for treating hypocalcemia: Carrier effects, acid - base balance and oral versus rectal administration. **Journal of Dairy Science**. 77:1451-1456. 1994.

GOFF J.P. 2009. **Como controlar a febre do leite e outras desordens metabólicas relacionadas à macrominerais em vacas de leite**. Anais 13º Curso novos enfoques na produção e reprodução de bovinos, Uberlândia, MG, p.267-284.

GONZÁLEZ, F.H.D.; SILVA, S.C. **Introdução à bioquímica clínica veterinária**. 2. Ed, Editora da UFRGS, Porto Alegre, 2006, 358p.

GRUM, D. E., et al. Nutrition during the dry period and hepatic lipid metabolism of periparturient dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.79, p.1850–1864, 1996.

GRUMMER, R.R.; WINKLER, J.C.; BERTICS, S.J. & STUDER, V.A. Effect of propylene glycol dosage during feed restriction on metabolites in blood of prepartum Holstein heifers. **Journal of Dairy Science**. 77: 3618-3628. 1994.

GRUMMER, R.R. Etiology of lipid-related metabolic disorders in periparturient dairy cows. **Journal of Dairy Science**. 76:3882-3896. 1993.

GRUMMER, R. R. Impact of changes in organic nutrient metabolism on feeding the transition dairy cow. **Journal of Dairy Science**, v.73, p.2820-2833, 1995.

GURETZKY, N. A. J.; CARLSON, D. B.; GARRETT, J. E. et al. Lipid metabolite profiles and milk production for Holstein and Jersey cows fed rumen-protected choline during the periparturient period. **Journal of Dairy Science**, v.89, n.1, p.188–200, 2006.

HORST, R.L. et al. Strategies for preventing milk fever in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**. v.80, p.1269-1280, 1997.

HOUCQUETTE, J.F.; BAUCHART, D. Intestinal absorption, blood transport and hepatic and muscle metabolism of fatty acids in preruminant and ruminant animals. **Reproduction Nutrition Development**. v.39, n.1, p.27-48, 1999.

JANOVICK GURETZKY, N. A., D. B. CARLSON, J. E. GARRET, and J.K DRACKLEY. Lipid metabolite profiles and milk production for Holstein and Jersey cows fed rumenprotected choline during the periparturient period. **Journal of Dairy Science**. 89:188-200.2006.

JORRITSMA, R. et al. Metabolic changes in early lactation and impaired reproductive performance in dairy cows. **Veterinary Research**, v.34, p.11-26, 2003.

KANEKO, J.J, HARVEY, J.W, BRUSS, M. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 6th ed. San Diego: Academic press, 2008. Appendices.

KOZLOSKI, G.V. **Bioquímica dos ruminantes**. 2. ed. Santa Maria: Ed. da UFSM, 2009. 216p.

LEBLANC, S. Monitoring metabolic health of dairy cattle in the transition period. **Journal of Reproduction and Development**, v.56, p. s29-s35, 2010.

LEBLANC S.J.; LISSEMORE K.D., KELTON D.F., DUFFIELD T.F. & LESLIE K.E. Major advances in disease prevention in dairy cattle. **Journal of Dairy Science** 89(4): 1267-1279. 2006.

LEBLANC S.J.; LESLIE K.E. & DUFFIELD T.F. Metabolic predictors of displaced abomasum in dairy cattle. **Journal of Dairy Science** 88:159-170.2005.

LI P.; LI X.B.; FU S.X.; WU C.C.; WANG X.X.; YU G.J.; LONG M.; WANG Z. & LIU G.W. Alterations of fatty acid β -oxidation capability in the liver of ketotic cows. **Journal of Dairy Science** 95:1759-1766.2012.

LIEN T.F.; CHANG L.B.; HORNG Y.M & WU C.P. Effects of propylene glycol on milk production, serum metabolites and reproductive performance during the transition period of dairy cows asian-aust. **Journal of Dairy Science**. 23 (3): 372-378.2010.

LEWIS, E.F & PRICE, E.K. The use of choline chloride as a lipotropic agent in the treatment of bovine liver dysfunction. **Br. Vet. J.** 113:242-246.1957.

MIYOSHI, S.; PATE, J.L & PALMQUIST, D.L.Effect of propylene glycol drenching on energy balance, plasma glucose, plasma insulin, ovarian function and conception in dairy cows. **Anim. Reprod. Sci.** 68: 29-43.2001.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient Requirements of Dairy Cattle**. 7.ed. Washington: National Academy Press. 2001. 380p.

NDLOVU, T., et al. Assessing the nutritional status of beef cattle: current practices and future prospects. **African Journal of Biotechnology**, v.6, p.2727-2734, 2007.

OETZEL G.R. & MCGUIRK S. **Cow side blood BHBA testing with a handheld “ketometer” fact sheet**. **School of Veterinay Medicine**, University of Wisconsin – Madison.2007.

OETZEL, G.R. Evaluation of the hand-held Precision Xtra system for diagnosing ketosis in early lactation dairy cows. **Journal of Dairy Science**. 88:526.2010.

OETZEL, G. R. **Monitoring and testing dairy herds for metabolic disease**. **Veterinary Clinics of North America: food animal practice**, v.20, p.651–674, 2004.

OSPINA, P. A., et al. Association between the proportion of sampled transition cows with incriased nonesterified fatty acids and beta-hydroxybutyrate and disease incidence, pregnancy rate, and milk production at the herd level. **Journal of Dairy Science**, v.93, p.3595-3601, 2010 a.

OSPINA, P. A., et al. Associations of elevated nonesterified fatty acids and beta-

hydroxybutyrate concentrations with early lactation reproductive performance and milk production in transition dairy cattle in the northeastern united states. **Journal of Dairy Science**, v.93, p.1596–1603, 2010b.

PARK, A. F.; SHIRLEY, J. E.; TITGEMEYER, E. C.; et al. Characterization of plasma metabolites in Holstein dairy cows during periparturient period. Int. **Journal of Dairy Science**, v.5, n. 4, p. 253- 263, 2010.

PICKETT, M.M.; PIEPENBRINK, M.S & OVERTON, T.R. Effects of Propylene Glycol or Fat Drench on Plasma Metabolites, Liver Composition, and Production of Dairy Cows During the Periparturient Period. **Journal of Dairy Science**.86: 2113-2121.2003.

PIEPENBRINK, M. S and T. R. OVERTON. Liver metabolism and production of cows fed increasing amounts of rumen-protected choline during the periparturient period. **Journal of Dairy Science**.86:1722–1733.2003.

REYNOLDS C.K., AIKMAN P.C., LUPOLI B., HUMPHRIES D.J. & BEEVER D.E. Splanchnic metabolism of dairy cows during the transition from late gestation through early lactation. **Journal of Dairy Science**. 86:1201-1217.2003.

RIBEIRO FILHO, J.D. et al. Hidratação enteral em bovinos via sonda nasogástrica por fluxo contínuo. **Ciência Animal Brasileira**. 11: 24-28. 2009.

ROBERTS T., CHAPINAL N., LEBLANC S.J., KELTON D.F., DUBUC J. & DUFFIELD T.F. Metabolic parameters in transition cows as indicators for early-lactation culling risk. **Journal of Dairy Science** 95 (6): 3057-3063.2012.

ROCHE, J.R., et al. Invited review: body condition score and its association with dairy cow productivity, health and welfare. **Journal of Dairy Science**, v.92, p.5769-5801, 2009.

RUEGG, P., MILTON, R.L. Body condition score of Holstein cows on Prince Edward Island, Canada: Relationships with milk yield, reproductive performance, and disease. **Journal of Dairy Science**, 78(3):552-564.1995.

SCHWALM, I. W., SCHULTZ, L. H.. Relationship of insulin concentration to blood metabolites in the dairy cow. **Journal of Dairy Science**, v.75, p.59,1976.

SHAHSAVARI, A. **The metabolic and reproductive responses of lactating dairy cows to supplementation with choline**. MPhil Thesis, School of Agriculture and Food Sciences, The University of Queensland. 2012.

SEIFI, H.A., MIRSHOKRAIE, P., FARZANEH, N. Metabolic profile test in Iran: variations of metabolites around parturition in dairy cattle. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v.44, (Suppl 1):P1213, 2003.

SMITH, BILLY I.; RISCO, C.A. Management of Periparturient Disorders in Dairy Cattle. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v.21, p.503-521, 2005.

STOKES, S.R & GOFF, J.P. Case study. Evaluation of Calcium Propionate and Propylene Glycol Administered into the Esophagus of Dairy Cattle at Calving. **Profes. Anim. Sci.** 17:115-122.2001.

STUDER, V.A. ; GRUMMER, R.R.; BERTICS, S.J & REYNOLDS, C.K. Effect of propylene glycol administration on periparturient fatty liver in dairy cows. **Journal of Dairy Science**. 76:2931-2339.1993.

VAN DEN TOP, A. M.; GEELEN M. J. H.; WENSING, T. et al. Higher postpartum hepatic triacylglycerol concentrations in dairy cows with free rather than restricted access to feed during the dry period are associated with lower activities of hepatic glycerolphosphate acyl- transferase. **J. Nutr.**, v.126, n.1, p.76–85, 1996.

VAN DEN TOP, A.M.; VAN TOL, A.; JANSEN, H.; GEELEN, M.J.H.; BEYNEN, A.C. Fatty liver in dairy cows postpartum is associated with decreased concentration of plasma triacylglycerols and decreased activity of lipoprotein lipase in adipocytes. **Journal of Dairy Research**, v.72, p.129-137, 2005.

VAN SOEST, P.J. **Nutritional ecology of the ruminants**. 2.ed. Ithaca: Cornell University, 476p. 1994.

VAZQUEZ-AÑÓN M., BERTICS S., LUCK M., GRUMMER R.R. & PINHEIRO J. Peripartum liver triglyceride and plasma metabolites in dairy cows. **Journal of Dairy Science** 77:1521-1528.1994.

WILDMAN E.E., et al. A dairy cow body condition scoring system and its relationship to standard production characteristics. **Journal of Dairy Science**, v.65, p.495-501, 1982.

WITTWER, F. **Marcadores bioquímicos no controle de problemas metabólicos nutricionais em gado de leite.** In: GONZÁLEZ, F. H. D.; BARCELLOS, J.; OSPINA P. H.; RIBEIRO, L. A. (Eds). Perfil metabólico em ruminantes: seu uso em nutrição e doenças nutricionais. Porto Alegre, Brasil. Gráfica da UFRGS. 2000b. 106p.

WU, X.; LIU, J.X.; XU, G.Z. Calcium homeostasis, acid-base balance, and health status in periparturient Holstein cows fed diets with low cation-anion difference. **Livestock Science**. v.117, p.7-14, 2008.

ANEXO 1 – CERTIFICADO CEUA

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS**

CERTIFICADO

Certificamos que o protocolo número 046/2015, referente ao projeto “Efeito da suplementação de colina protegida ruminalmente em vacas leiteiras no período de transição”, sob a responsabilidade de Rodrigo de Almeida, na forma em que foi apresentado (utilização de 400 vacas e como grau B de invasividade), foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais do Setor de Ciências Agrárias, em reunião realizada dia 27 de Maio de 2015.

CERTIFICATE

We certify that the protocol number 046/2015, regarding the project “Effect of supplementation of ruminally protected choline in dairy cows in transition period”, under Rodrigo de Almeida supervision, in the terms it was presented (use of 400 cows and was classified as grade B of invasiveness), was approved by the Animal Use Ethics Committee of the Agricultural Sciences Campus of the Universidade Federal do Paraná (Federal University of the State of Paraná, Brazil) during session on May 27, 2015.

Curitiba, 27 de Maio de 2015.

Ananda Portella Félix
Presidente CEUA-SCA

Simone Tostes de Oliveira Stedile
Vice-Presidente CEUA-SCA

Comissão de Ética no Uso de Animais do Setor de Ciências Agrárias - UFPR